

Université de Montréal

**L'effet de la bulbectomie olfactive sur l'activité de  
l'adénylate cyclase et la densité des protéines G dans  
le système limbique**

par

Brian D'Anjou

Département de sciences biomédicales

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de Maîtrise

en Sciences biomédicales

option Psychiatrie

Août, 2005

© Brian D'Anjou, 2005



W

4

U58

2006

V.039

## AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

## NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

L'effet de la bulbectomie olfactive sur l'activité de l'adénylate cyclase et sur la  
densité des protéines G dans le système limbique

présenté par :  
Brian D'Anjou

a été présenté et évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Robert Elie, MD, Ph.D., président-rapporteur  
Roger Godbout, Ph.D., directeur de recherche  
Guy Rousseau, Ph.D., co-directeur de recherche  
Ron Sullivan, Ph.D., membre du jury

## RÉSUMÉ

### **Introduction :**

Les études humaines et animales ont démontré le rôle de la neurotransmission monoaminergique dans la pathophysiologie des désordres dépressifs. L'étude actuelle cherche à caractériser davantage la neurotransmission en mesurant l'activité de l'adénylate cyclase ainsi que la densité des protéines G inhibitrices et stimulantes dans différentes régions du système chez le rat ayant subi une bulbectomie olfactive (OBX), un modèle animal de dépression.

### **Méthodes:**

Les animaux ont été divisés en deux groupes: les rats OBX et les rats sham. Les structures limbiques à l'étude étaient l'hippocampe, le cortex frontal, le cingulé, le noyau caudé, l'hypothalamus latéral et médian, l'amygdale latérale et médiane. L'activité de l'adénylate cyclase fut mesurée deux semaines après la bulbectomie d'abord en condition basale, puis après une stimulation à la forskoline (indépendante des protéines G) et au fluorure de sodium (NaF : dépendant des protéines G). La densité des protéines Gi et Gs fut mesurée par la technique Western blot. Tous les résultats ont été comparés avec le Test-T de Student pour échantillons indépendants.

### **Résultats:**

Le seul résultat significatif observé fut une réduction de production d'AMPc stimulé par NaF dans le cortex frontal, le cingulé, l'hypothalamus latéral et médian des rats OBX ( $p \leq .05$ ). Le rapport Gi/Gs fut significativement augmenté pour les mêmes quatre régions limbiques chez les rats OBX ( $p \leq .05$ ).

**Conclusion:**

Ces résultats démontrent une réduction de l'activité d'adénylate cyclase liée à une augmentation du rapport  $G_i/G_s$  dans un modèle animal de dépression (OBX). L'implication des protéines G dans les voies cellulaires de la transcription des facteurs neurotrophiques, qui pourraient avoir des propriétés antidépressives, devrait être approfondie dans un modèle animal de dépression.

**Mots-clés :** Dépression, bulbectomie, adénylate cyclase, Protéine G, système limbique

## ABSTRACT

### **Introduction :**

Human and animal studies have shown the role of monoaminergic neurotransmission in the pathophysiology of depressive disorders. The present study sought to further characterize neurotransmission by measuring adenylyl cyclase activity as well as inhibitory and stimulatory G protein density in different limbic brain regions of the olfactory bulbectomized rat (OBX), an animal model of depression.

### **Methods:**

The animals were divided in two groups: OBX rats and sham rats. The limbic structures studied were the hippocampus, frontal cortex, cingulate, the caudate nucleus, the lateral and medial hypothalamus, the lateral and medial amygdala. Adenylyl cyclase activity was measured two weeks after bulbectomy in baseline conditions as well as following stimulation by forskoline (G-protein independent) and sodium fluoride (NaF: G-protein dependent). Gi and Gs protein density was measured using the Western blot technique. All results were compared with Student's T-Test for independent samples.

### **Results:**

The only significant result was a reduction in NaF-induced cAMP production in the frontal cortex and cingulate, the lateral and medial hypothalamus of OBX rats ( $p \leq .05$ ). Gi/Gs ratio was significantly increased in the same four brain regions ( $p \leq .05$ ).

**Conclusion:**

These results show a reduction of adenylyl cyclase activity leading to a increased  $G_i/G_s$  ratio in a rat model of depression. Involvement of G proteins in neurotrophic factor transcription pathways, which could have antidepressant properties, should be further investigated in an animal model of depression.

**Keywords:** Depression, bulbectomy, adenylyl cyclase, G proteins, limbic system



# TABLE DES MATIÈRES

<b>Résumé.....</b>	<b>i</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>iii</b>
<b>Liste des figures.....</b>	<b>vii</b>
<b>Sigles et abréviations.....</b>	<b>viii</b>
<b>Dédicace.....</b>	<b>x</b>
<b>Remerciements.....</b>	<b>xi</b>
<b><u>INTRODUCTION</u>.....</b>	<b>1</b>
<b>DÉPRESSION.....</b>	<b>1</b>
1) Généralités.....	1
2) Hypothèse monoaminergique de la dépression.....	2
2.1) Les systèmes monoaminergiques centraux.....	4
2.2) Interactions monoaminergiques et efficacité thérapeutique des antidépresseurs.....	5
3) Les récepteurs à substance P (Neurokinine 1 [NK-1]) dans la dépression...	8
4) Hypothèse cellulaire de la dépression.....	9
<b>TRANSDUCTION SIGNALÉTIQUE.....</b>	<b>11</b>
1) Généralités.....	11
2) Récepteurs couplés aux protéines G (RCPG).....	12
3) Protéine G.....	13
4) Adénylate cyclase.....	15
5) Réponse cellulaire.....	17
<b>SYSTÈME LIMBIQUE.....</b>	<b>21</b>
1) Généralités.....	21
2) Amygdale.....	22
3) Hippocampe.....	24
4) Hypothalamus.....	26
5) Cortex préfrontal.....	30
6) Cortex cingulaire.....	32
7) Noyau caudé.....	34
<b>BULBES OLFACTIFS COMME ÉLÉMENTS DU SYSTÈME LIMBIQUE.....</b>	<b>36</b>
<b>MODÈLE ANIMAL DE LA DÉPRESSION : BULBECTOMIE OLFACTIVE (OBX).....</b>	<b>38</b>
1) Généralités.....	38
2) Altérations biochimiques.....	39
3) Altérations physiologiques.....	40
4) Altérations comportementales.....	43

<b><u>OBJECTIFS</u></b> .....	46
<b><u>HYPOTHÈSES</u></b> .....	48
<b><u>ARTICLE</u></b> .....	49
<b>CONTRIBUTION DES AUTEURS</b> .....	50
<i>Abstract</i> .....	52
<i>Introduction</i> .....	53
<i>Methods</i> .....	55
<i>Animals</i> .....	55
<i>Surgical procedures</i> .....	55
<i>Membrane preparation for adenylyl cyclase activity and G protein</i> <i>determination</i> .....	56
<i>Adenylyl cyclase activity determination</i> .....	56
<i>Western blot of G protein</i> .....	57
<i>Statistics</i> .....	58
<i>Results</i> .....	59
<i>Adenylyl cyclase activity</i> .....	59
<i>Gi/Gs ratio</i> .....	62
<i>Discussion</i> .....	63
<i>References</i> .....	67
<b><u>DISCUSSION</u></b> .....	71
1) Adénylate cyclase.....	71
1.1) Basal.....	71
1.2) Forskoline.....	72
1.3) Fluorure de sodium (NaF) et protéines G.....	74
2) Les étapes complémentaires : CREB et BDNF.....	77
3) Régions affectées par la bulbectomie.....	80
<b><u>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</u></b> .....	85
<b><u>BIBLIOGRAPHIE</u></b> .....	86
<b><u>ANNEXE</u></b> .....	xii

## LISTE DES FIGURES

Figure 1A : Interactions des récepteurs NA et 5-HT .....	5
Figure 1 : <i>Basal cyclic-AMP mesures in rat brain samples</i> .....	59
Figure 2 : <i>Cyclic-AMP mesures in forskoline-stimulated rat brain samples</i> .....	60
Figure 3 : <i>Cyclic-AMP mesures in NaF-stimulated rat brain samples</i> .....	61
Figure 4 : <i>Gi on Gs concentration ratio in rat brain samples</i> .....	62

## SIGLES ET ABBRÉVIATIONS

5-HT: sérotonine

AC : adénylate cyclase

Al : aluminium

AMPc : adénosine monophosphate cyclique

ARNm : acide ribonucléique messenger

ATP : adénosine triphosphate

BDNF : *brain derived neurotrophic factor*

CA1 à 4 : Corne d'Ammon 1 à 4

CaM : Calmoduline

Caudate : noyau caudé

CBP: *CREB-binding protein*

CCA : cortex cingulaire antérieur

CCM: cortex cingulaire médian

CCP : cortex cingulaire postérieur

CCPA: Conseil Canadien de la protection des animaux

Cing: cortex cingulaire

CREB: *cyclic AMP response-element binding protein*

CRF: *corticotropin-releasing factor*

CRH: *corticotropin-releasing hormone*

CRS : cortex rétro-splénial

CsF: fluorure de Césium

DB : désordre bipolaire

DSM-IV : *Diagnostic and Statistical Manual, Fourth Edition*

GABA : acide  $\gamma$ -aminobutyrique

GDP : guanosine diphosphate

Gi : protéine G inhibitrice

GTP : guanosine triphosphate

Gs : protéine G stimulante

HHS: hypothalamo-hypophyso-surrénalien

Hipp : hippocampe

IgG: immunoglobuline G

IMAO: inhibiteur de la monoamine oxydase

ISRNA : inhibiteur sélectif de la récapture de la noradrénaline

ISRS : inhibiteur sélectif de la récapture de la sérotonine

LatAm : amygdale latéral

LatHyp : Hypothalamus latéral

LMN: leucocyte mononucléaire

MAPK: mitogen-activated protein kinase

MDD: *major depressive disorder*

MedAm : amygdale médian

MedHyp : hypothalamus médian

min : minute

Mg : magnésium

mm : millimètre

mM : millimolaire

NA: noradrénaline

NaF : fluorure de sodium

NE : *norepinephrine*

NK1 : neurokinine 1

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

OBX: bulbectomie olfactive

PI3-K: phosphoinositide 3-kinase

PKA : protéine kinase A

pmol/min/mg: picomole par minute par milligramme

Prefront: Cortex préfrontal

RCPG : récepteur couplé aux protéines G

RG : récepteur des glucocorticoïdes

µg/ml : microgramme par millilitre

µM : micromolaire

*Je dédie ce mémoire à ma famille.*

*Merci à Jorge, Jérémy et Éduarda pour votre appui constant, pour votre encouragement et vos paroles réconfortantes. J'apprécie ce que vous faites pour moi chaque jour.*

*Eu gosto de ti, Vavő.*

*Merci à Jacinthe pour ta compréhension, ton support et ton influence positive. Tes accomplissements sont des modèles de réussite, d'efficacité et d'intelligence pour moi.*

*Merci pour ta présence chaleureuse.*

*Enfin, merci à ma mère, Graça Félix, sans qui rien de ceci n'aurait été possible. Ta persévérance face à l'adversité, ton honnêteté, ton intégrité inébranlable et ton courage m'ont appris que rien n'est inatteignable, qu'aucun rêve n'est impossible.*

*Merci de toujours me ramener à la réalité quand j'en ai besoin.*

*Merci pour tes conseils, qui s'avèrent toujours les meilleurs.*

*Merci pour tes encouragements.*

*Merci pour ton amour inconditionnel.*

*Sans toi, ce mémoire, ainsi que son auteur, n'existerait pas.*

*Obrigado à toudos.*

## REMERCIEMENTS

L'apport de plusieurs personnes a permis la réalisation de ce mémoire de maîtrise. J'espère que leurs mentions ici fera justice à l'appréciation que j'éprouve à leur égard.

Je tiens à remercier Boubacar Pasto Wann, pour le partage de ses connaissances techniques, sa serviabilité et son amabilité qui ont facilité la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à exprimer mon appréciation à mon co-directeur, le docteur Guy Rousseau. Son attitude professionnelle, ses techniques d'apprentissage méthodologiques et sa quête inlassable de découvertes significatives m'ont donné les outils pour réaliser cet ouvrage dans un environnement bénéfique et agréable.

Finalement, je tiens à exprimer ma gratitude à mon directeur, le docteur Roger Godbout. Ses connaissances, d'une quantité et d'une diversité impressionnante, ainsi que son orientation pédagogique ont su maximiser la pertinence de ce travail. Sa compréhension, son honnêteté et ses encouragements m'ont aidé à surmonter les obstacles rencontrés au cours de cette maîtrise. Ses opinions scientifiques et autres m'ont amené à la maturité en tant que chercheur et en tant que personne.

# INTRODUCTION

## DÉPRESSION

### 1) Généralités

La dépression majeure est la première cause d'incapacité dans le monde selon une étude réalisée conjointement par l'Organisation Mondiale de la Santé, la Banque Mondiale et l'Université Harvard (Murray et Lopez, 1997). D'autres études montrent que 16,2% des américains souffrent, à un certain moment de leur vie, de dépression majeure alors qu'une incidence de 6,6% a été relevée sur une période de 12 mois (Kessler et al, 2003). Les traitements de la dépression coûtent 43.7 milliards de dollars par année en frais directs et indirects (Hall et Wise, 1995; Berto et al, 2000; Cassano et al, 2002). Il va sans dire qu'il est important de faire avancer nos connaissances sur cette maladie.

Le diagnostic de dépression est basé sur une série de changements comportementaux par comparaison au fonctionnement pré-morbide d'une personne. Ce diagnostic requiert la présence d'au moins cinq symptômes parmi les suivants, sur une période minimale de deux semaines (DSM-IV, 1994) :

- Une humeur dépressive anormale pendant presque toute la journée.
- Une perte anormale de plaisir et d'intérêt général.
- Une augmentation ou une diminution de 5% du poids corporel total en un mois; une variation anormale de l'appétit à chaque jour.



- Une apparition de troubles de sommeil (insomnie ou hypersomnie).
- Une agitation ou ralentissement psychomoteur anormal.
- Une fatigue anormale ou perte d'énergie.
- Des sentiments de culpabilité ou de reproches inappropriés, des sentiments d'inutilité.
- Des troubles anormaux de concentration.
- Des pensées morbides, pessimistes, suicidaires.

Une des théories prévalentes au sujet de l'étiologie de la dépression propose qu'elle émane d'un niveau élevé de stress. Ce stress peut être plus ou moins chronique, atteignant un seuil auquel la personne ne peut plus s'adapter, par exemple suite à un traumatisme émotionnel tel que la mort d'un être cher ou la séparation d'un conjoint, un conflit intérieur incessant (Ormel et al., 2004; O'Sullivan, 2004). Plusieurs études suggèrent qu'une prédisposition génétique pourrait jouer un rôle dans cette pathologie (Shumake et Gonzalez-Lima, 2003; Charney et Manji, 2004). Quoiqu'il en soit, toutes les approches sur la nature de la dépression convergent à un moment ou l'autre vers les mécanismes de la neurotransmission, que ce soit en ce qui concerne la physiopathologie elle-même ou les mécanismes d'action des antidépresseurs.

## **2) Hypothèse monoaminergique de la dépression**

Selon cette hypothèse, la réduction de disponibilité de sérotonine (5-HT) et/ou de noradrénaline (NA) serait la cause des symptômes de la dépression. En fait, la

découverte des premiers antidépresseurs, notamment les antidépresseurs tricycliques et les inhibiteurs de la monoamine oxydase, ont été les indices précoces de l'implication de ces changements corticaux chimiques dans la régulation des symptômes dépressifs. Ainsi, les antidépresseurs tricycliques tel l'imipramine, qui sont nommés ainsi pour leurs structures moléculaires à trois anneaux, inhibent la recapture de 5-HT et de NA. Les inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO), tel la phénylazine ou la pargyline, empêchent le catabolisme enzymatique de la 5-HT et de la NA dans l'espace inter-synaptique ou dans les terminaisons nerveuses par la monoamine oxydase. Ces antidépresseurs sont aujourd'hui rarement utilisés à cause de leurs effets secondaires importants. Plus utilisés aujourd'hui sont les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS), tel la fluoxétine, qui empêchent la recapture de 5-HT de façon sélective. Certaines molécules inhibent préférentiellement la recapture de la noradrénaline, tel la désipramine, et leur efficacité ne fait pas de doute. Par contre, il n'existe à peu près pas de ISRNA efficaces, à l'exception de la reboxétine (Kasper et Resinger, 2001; Nelson et al., 2005).

L'action globale de chaque catégorie d'antidépresseurs a pour but d'augmenter la biodisponibilité des monoamines ou de favoriser la liaison des monoamines avec leurs récepteurs, ce qui, selon cette théorie, serait la cause de l'amélioration de l'humeur et de l'atténuation des symptômes des patients dépressifs.

## 2.1) Les systèmes monoaminergiques centraux

Les neurones sérotoninergiques se trouvent dans les noyaux du Raphé du tronc cérébral (B1-B9). Les noyaux dorsaux et médians projettent entre autres vers le cortex frontal et le système limbique en plus de projeter de façon diffuse à travers du cerveau (Piñeyro et Blier, 1999). L'hypothèse monoaminergique explique l'humeur morbide du déprimé par une biodisponibilité déficiente et/ou par une liaison neurotransmetteurs-récepteurs insuffisante de 5-HT.

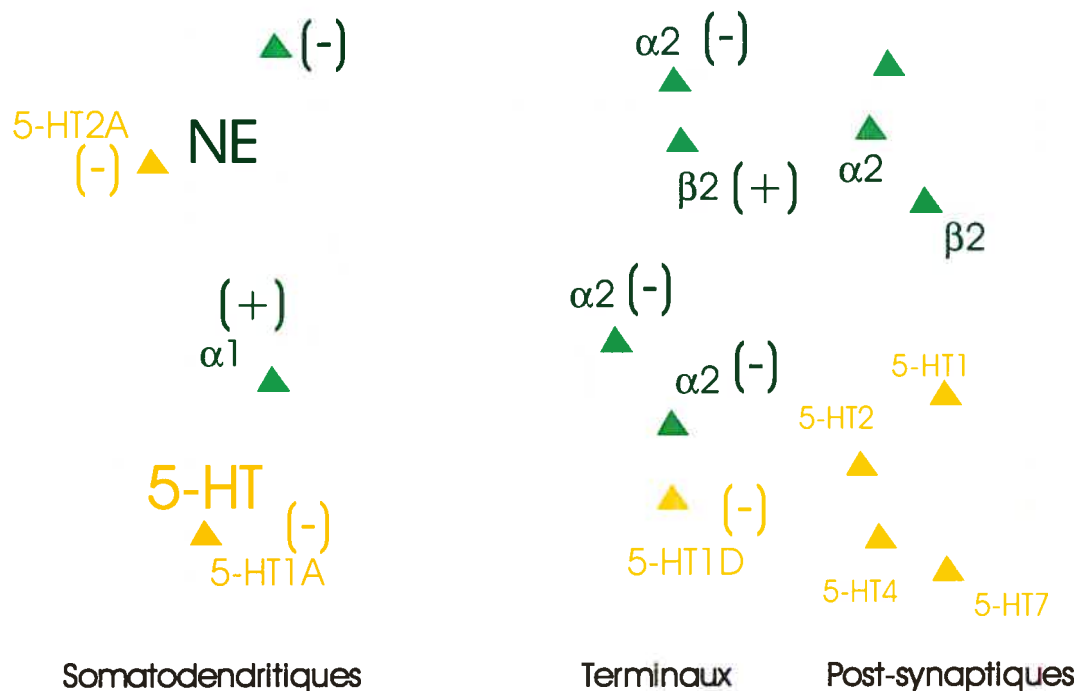
L'origine prépondérante du système noradrénergique limbique est le locus coeruleus, dans la partie dorsale de la jonction ponto-mésencéphalique du tronc cérébral. Ses connexions neuronales s'effectuent principalement avec les noyaux du raphé, le cortex cérébral, le noyau sensitif du nerf trijumeau, l'hypothalamus et le système limbique. Tout comme les noyaux du raphé pour la 5-HT, le locus coeruleus innerve le cerveau en NA de façon très diffuse (Levitt et Moore, 1978; Byrum et al., 1999). Ainsi, on suppose que les déficits corticaux en NA entraîneraient les signes végétatifs et anxieux ainsi que les perturbations de sommeil décrit dans le portrait clinique de la dépression (Byrum et al., 1999; Nestler et al., 2002; Elhwuegi, 2004). Cette carence noradrénergique expliquerait également les symptômes d'inhibition psychomotrice associés à la maladie (Elhwuegi, 2004). Paradoxalement, le mécanisme d'action des antidépresseurs, qui est à la base de la théorie monoaminergique de la dépression, ne justifie pas toujours leur efficacité thérapeutique. En effet, 20% des patients dépressifs traités aux antidépresseurs

monaminergiques ne démontrent aucune amélioration symptomatique (Fleck et Horwath, 2005; Kirwin et Goren, 2005).

## 2.2) Interactions monoaminergiques et efficacité thérapeutique des antidépresseurs

Un second indice de l'implication d'une déficience monoaminergique dans la physiopathologie de la dépression est la grande connectivité des réseaux neuronaux 5-HT et NA entre-eux (Blier, 2001). Les systèmes NA et 5-HT interagissent par différentes projections l'une vers l'autre ainsi que par l'agencement de récepteurs homologues et hétérologues. Ces interactions transitent par trois localisations de récepteurs : somatodendritiques, terminaux et post-synaptiques.

**FIGURE 1A** : Interactions des récepteurs NA et 5-HT



Tout d'abord, les neurones 5-HT possèdent des autorécepteurs somatodendritiques et terminaux exerçant un contrôle négatif sur la libération de 5-HT. Même si les récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> et 5-HT<sub>1D</sub> sont reconnus comme étant des récepteurs terminaux, des études récentes supposent leur existence aux niveaux somatodendritiques (Blier et al., 1999). Les récepteurs somatodendritiques 5-HT<sub>1A</sub> ne présenteraient pas le même profil pharmacologique que les récepteurs post-terminaux 5-HT<sub>1A</sub> et seraient alors impliqués dans le contrôle négatif de la neurotransmission 5-HT (Blier et al., 1999). La liaison du neurotransmetteur (ou d'un agoniste) à ces autorécepteurs mène à la diminution de la neurotransmission de 5-HT. On retrouve également des récepteurs post-synaptiques 5-HT<sub>1A</sub> sur les neurones NA. La liaison de ces récepteurs exerce une action inhibitrice (hyperpolarisante) sur la neurotransmission NA et, indirectement, de la neurotransmission 5-HT puisque la NA favorise la libération de 5-HT par les hétérorécepteurs  $\alpha_1$  situés sur les neurones 5-HT (Blier et al., 1999 ; Piñeyro et Blier, 1999 ; Blier, 2001). À leur tour, les neurones NA régulent leur activité par des adrénorécepteurs somatodendritiques  $\alpha_2$  situés sur leurs corps cellulaires. Les neurones NA possèdent également des adrénorécepteurs terminaux de type  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  et  $\beta$  qui médient la libération de NA. En effet, le rythme de décharge lent et plutôt régulier du neurone NA dépend surtout de l'autorécepteur  $\alpha_2$  qui exerce un contrôle négatif sur la dépolarisation (Blier, 2001). La liaison du neurotransmetteur avec l'autorécepteur  $\alpha_2$  diminue la libération de NA alors que sa liaison avec l'autorécepteur  $\beta$  favorise celle-ci (Blier, 2001). Il y a des récepteurs cibles post-synaptiques NA de type  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  et  $\beta$  sur des neurones 5-HT. En effet,

l'adrénorécepteur hétérologue  $\alpha_1$  situé sur le corps cellulaire des neurones 5-HT exerce une action excitatrice sur ces dernières et augmente la libération du neurotransmetteur 5-HT. L'interaction entre ces systèmes monoaminergiques dans la physiopharmacologie de la dépression et l'action des antidépresseurs devient ainsi difficile à ignorer. Les mécanismes d'action des antidépresseurs se basent d'ailleurs sur ce principe. En effet, le but ultime des antidépresseurs est d'augmenter la disponibilité des monoamines (principalement 5-HT) au niveau de ses récepteurs dans les structures cibles du système limbique. Cette modulation de la neurotransmission peut s'effectuer à trois niveaux : en bloquant la recapture de la 5-HT libérée, en désensibilisant les autorécepteurs terminaux ou en désensibilisant les autorécepteurs somatodendritiques. Par exemple, l'administration d'un ISRS augmente presque immédiatement les niveaux inter-synaptiques de 5-HT ce qui mène à une augmentation de la liaison des autorécepteurs somatodendritiques et des hétérorécepteurs post-synaptiques sérotoninergiques. Conséquemment, la neurotransmission NA est stimulée pendant que la neurotransmission 5-HT est inhibée. Cependant, après une administration chronique, les autorécepteurs somatodendritiques et terminaux sont désensibilisés et la neurotransmission 5-HT est alors augmentée, le contrôle négatif de la libération 5-HT étant réduit. La neurotransmission NA sera également stimulée par la liaison de 5-HT aux hétérorécepteurs 5-HT<sub>1A</sub> des neurones NA (Blier et de Montigny, 1999 ; Blier et al., 1999).

### **3) Les récepteurs à substance P (Neurokinine-1 [NK-1]) dans la dépression**

Dernièrement, des études ont montré des niveaux élevés de substance P plasmatique chez des patients déprimés. Également, une diminution significative de ces niveaux de substance P proportionnelle aux améliorations cliniques des patients a été remarquée. Aussi, des études animales montrent que l'administration d'antidépresseurs diminue les niveaux de substance P dans le cerveau de rat (Shirayama et al., 1996). Enfin, l'efficacité des antagonistes NK-1 dans le traitement de la dépression a récemment été étudiée (Kramer et al., 1998). Or, on retrouve des récepteurs NK-1 sur les neurones NA du locus coeruleus mais pas sur les neurones 5-HT du raphé dorsal. L'administration de différents antagonistes de NK-1 ne modifie pas non plus la libération de NA chez le rat (Blier et al., 2004). Cependant, les antagonistes NK-1 diminuent, presque immédiatement après l'administration, la sensibilité des autorécepteurs pré-synaptiques NA et atténuent le contrôle négatif exercé par l'autorécepteur adrénergique  $\alpha_2$  qui pourrait ainsi augmenter les niveaux synaptiques de NA (Blier et al., 2004). Suite à l'administration d'un antagoniste NK-1, la libération de neurotransmetteurs par les neurones 5-HT augmente après un délai de quelques minutes ; ce délai se traduit par le fait que l'action primaire de l'antagoniste s'effectue sur les neurones NA. En effet, suite à une administration d'antagoniste NK-1 pendant deux jours, on observe une augmentation de 50% de libération de 5-HT dans le raphé dorsal de rat. Après 14 jours, une augmentation de 90% est observée ainsi qu'une diminution significative de la sensibilité de l'autorécepteur pré-synaptique 5-HT<sub>1A</sub> (Blier et al., 2004). Donc, la désensibilisation

des autorécepteurs adrénergiques  $\alpha_2$ , qui augmenterait la liaison de NA aux récepteurs excitateurs hétérologues  $\alpha_1$  situés sur les neurones 5-HT, ainsi que la désensibilisation des autorécepteurs 5-HT<sub>1A</sub> par l'antagoniste NK-1 augmenteraient la biodisponibilité de 5-HT et, de cette façon, exercerait son action antidépressive (Blier et al., 2004).

#### **4) Hypothèse cellulaire de la dépression**

Depuis peu, une nouvelle théorie de causalité des désordres dépressifs suscite beaucoup l'intérêt des chercheurs. L'hypothèse moléculaire et cellulaire de la dépression suggère qu'il y aurait des changements structuraux macro- et microscopiques dans différentes régions du cerveau causant directement ou indirectement les symptômes psycho- et/ou physiopathologiques. Cette hypothèse n'élimine pas l'implication d'une dysfonction des systèmes de neurotransmission monoaminergique dans certains aspects de la pathologie. Elle suppose que la susceptibilité aux désordres affectifs serait déterminée par une neuroplasticité déficiente (différents processus par lesquels le cerveau perçoit, s'adapte et répond à divers stimuli) et une résistance cellulaire (habilité de la cellule à récupérer suite à l'exposition à des stimuli toxiques et potentiellement léthales tels le stress et les glucocorticoïdes) anormale qui contribueraient chacun à la mort neuronale ainsi que l'atrophie des structures limbiques et paralimbiques.



La neurogénèse, une des nombreuses manifestations de la neuroplasticité, comprend la prolifération cellulaire, l'intégration fonctionnelle, le développement fonctionnel des dendrites et la différenciation des cellules en neurones ou en glie. Précédemment reconnue comme étant exclusive au neurodéveloppement, la neurogénèse, quoique restreinte aux zones contenant des cellules pluripotentes (bulbes olfactifs, hippocampe, ...), existe également dans le cerveau adulte des mammifères. La régulation de la neurogénèse adulte serait effectuée par une variété de signaux stimulants tels l'apprentissage, l'exercice physique et les antidépresseurs ainsi que des signaux inhibiteurs tels le stress et les glucocorticoïdes. En effet, on remarque par exemple une augmentation de production de cortisol et de glucocorticoïdes chez 50% des patients déprimés. Dans de telles conditions, on observe une atrophie des neurones pyramidaux CA3 de l'hippocampe, ce qui diminue le contrôle négatif de cette structure sur l'hypothalamus et contribue à la sur-activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. Par ailleurs, plusieurs études semblent montrer que la neurogénèse serait un des mécanismes d'action par lequel les antidépresseurs contribuent à la régénérescence du volume hippocampal des patients déprimés. On retrouve aussi des récepteurs de glucocorticoïdes dans l'hypothalamus et le cortex préfrontal médian, deux structures limbiques importantes dans le processus émotionnel.

## TRANSDUCTION SIGNALÉTIQUE

On a vu dans les sections précédentes les différents éléments de l'approche monoaminergique de la dépression qui convergent vers la transduction du signal au niveau des récepteurs. Cette section va décrire plus en détail ce qui constitue le fond de ce mémoire, soit les éléments constitutants de la transduction signalétique.

### 1) Généralités

La découverte aléatoire des antidépresseurs dans les années 1950 fût le premier signe de l'implication d'une déficience biochimique dans la pathophysiologie de la dépression (Vaidya et Duman, 2001). Par la suite, on a découvert que l'action des récepteurs monoaminergiques était suivie, au niveau transmembranaire, par une cascade de transduction du signal, laquelle mène éventuellement à une dépolarisation (qui permet la transmission du signal) ou une hyperpolarisation (qui bloque le signal) du neurone selon le type de récepteur lié (Cooper et al., 1996; Elhwuegi, 2004; Hurley et al, 2004). En fait, depuis environ les dix dernières années, les études sur la pathophysiologie des troubles de l'humeur se penchent davantage sur les voies de transductions signalétiques, incluant des seconds messagers et des effecteurs, à l'intérieur de la cellule plutôt que sur la disponibilité des amines biogènes extracellulaires (Gould et Manji, 2002). Même les mécanismes d'actions des antidépresseurs semblent agir par l'entremise de certains éléments des cascades signalétiques pour influencer diverses réponses cellulaires ayant un impact possible

sur la pathophysiologie du désordre (Duman, 1998; Duman, 2002; Young et al., 2002).

## **2) Récepteurs couplés aux protéines G (RCPG)**

Depuis 1983, approximativement 2000 RCPG ont été identifiés et divisés en plus de 100 sous-familles selon leurs séquences génétiques, la structure de leurs ligands ou leurs fonctions (Ji et al., 1998). Chaque RCPG se compose de sept domaines transmembranaires contenant chacun d'environ 20 à 27 acides aminés (Bockaert et Pin, 1998 ; Gether et Hobilka; 1998; Ji et al., 1998). Les RCPG possèdent également un segment amino-terminal (N-terminal) (sept à 595 acides aminés), des boucles (cinq à 230 acides aminés) et un segment carboxy-terminal (C-terminal) (12 à 359 acides aminés), variant tous en taille et, ainsi, indiquant leur grande variété de structures et de fonctions (Gether, 2000). Le segment N-terminal, à l'extrémité extracellulaire de la membrane, permet la glycosylation ainsi que la liaison des ligands. Le segment C-terminal, placé à l'extrémité intracellulaire de la membrane, permet la phosphorylation et la palmitoylation (Ji et al., 1998; Gether et al., 2002). La conformation circulaire anti-horaire des sept domaines transmembranaires forme un noyau dont l'orientation influence les mécanismes permettant la liaison des ligands et l'activation du récepteur (Bockaert et Pin, 1998 ; Gether et Hobilka; 1998). Les domaines transmembranaires sont étroitement retenus entre eux par de nombreux liens hydrogénés alors que plusieurs liens disulfures assurent la stabilité de la conformation structurale du récepteur (Ji et al., 1998). Également, cet arrangement permet la formation de trois boucles extracellulaires et

trois boucles cytoplasmiques en taille et en nombre suffisant pour offrir plusieurs mécanismes régulateurs et des sites de contact pour la protéine G et d'autres molécule-sigales tels la Jak2 kinase (Ali et al., 1997), la phospholipase C $\gamma$  (Venema et al., 1998), les RCPG kinases (Lefkowitz, 1998), l'arrestine (Lefkowitz, 1998), la calmoduline (Minakami et al., 1998) et la protéine kinase C (Minakami et al., 1998).

Les RCPG sont impliqués dans presque toutes les activités physiologiques (le métabolisme, les sécrétions endo- et exocrines, la contraction musculaire, l'inflammation, l'immunité...) y compris la cognition (Kohout et Lefkowitz, 2003). Ces récepteurs reconnaissent des signaux extracellulaires aussi divers que des hormones glycoprotéiques, des catécholamines et même de la lumière (Coleman et Sprang, 1996; Clapham et Neer, 1997). Cette liaison déclenche une cascade signalétique qui mène ensuite à l'activation de la protéine G.

### **3) Protéine G**

Des milliers de stimuli agissent à tout moment sur les récepteurs qui leurs sont sensibles. La régulation fonctionnelle des cellules qui en sont porteuses s'effectue par l'entremise d'un nombre restreint d'unités adaptées pour assurer une diversité des réponses possibles. La principale unité de régulation comprend un capteur de signaux (récepteur) et un initiateur de signaux (effecteur) reliés et coordonnés par une protéine G (Berman et Gilman, 1998). La protéine G est un hétérotrimère composé d'une sous-unité  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ . La combinaison des différents types de sous-unités (16 à

20 de type  $\alpha$ , 5 à 6 de type  $\beta$  et au moins 12 de type  $\gamma$ ) offre une immense diversité fonctionnelle à la protéine G (Berman et Gilman, 1998; Hamm, 1998). Sous sa forme inactive (basale), la protéine G est liée à une molécule de guanosine diphosphate (GDP) (Krupinsky et al., 1998). La liaison d'un ligand active les RCPG, lesquels catalysent la dissociation de la molécule de GDP et la jonction d'une molécule de guanosine triphosphate (GTP), activant ainsi la protéine G (Coleman et Sprang, 1996; Clapham et Neer, 1997; Dessauer et al., 1998; Hamm, 1998). La forme de l'hétérotrimère lié au GTP devient instable et se dissocie pour former un complexe GTP- $\alpha$  actif et un complexe  $\beta\gamma$  (Coleman et Sprang, 1996). Le nouveau complexe actif GTP- $\alpha$  exerce ensuite une action stimulante (protéine  $G_s$ ) ou inhibitrice (protéine  $G_i$ ) sur l'effecteur de la cascade signalétique, principalement l'adénylate cyclase (AC). Le complexe GTP- $\alpha$  se dissocie de l'effecteur lors de la détérioration de la molécule de GTP due à l'activité GTP-ase de la sous-unité  $\alpha$  (Coleman et Sprang, 1996). Cette action GTP-ase, qui est commune à toutes les sous-unités  $\alpha$ , proviendrait d'un résidu glutamique contenu dans la sous-unité (Kleuss et al., 1994). La sous-unité  $\alpha$  est formée de deux domaines : un domaine impliqué dans la liaison et l'hydrolyse de la GTP (appelé le domaine G) ainsi qu'un domaine hélicoïdal qui enfouit la molécule de GTP au centre de la protéine (Hamm, 1998).

On a longtemps cru que le complexe  $\beta\gamma$  avait comme fonction la désactivation de la sous-unité  $\alpha$  et l'augmentation de l'adhérence de cette dernière à la membrane plasmique (Clapham et Neer, 1997). Récemment, il a été démontré que le complexe  $\beta\gamma$  peut, en coordination ou indépendamment du complexe GTP- $\alpha$ , réguler l'activité d'effecteurs intracellulaires incluant l'adénylate cyclase, les phospholipases  $C\beta$ s, les

canaux ioniques et les phospholipases C (Coleman et Sprang, 1996; Clapham et Neer, 1997; Sunahara et Taussig, 2002). Le complexe  $\beta\gamma$  est indissociable excepté par dénaturation (Hamm, 1998) et il inhibe la dissociation de GDP de la sous-unité  $\alpha$  (Clapham et Neer, 1997).

#### **4) Adénylate cyclase (AC)**

L'adénylate cyclase, molécule enzymatique effectrice, comprend 12 domaines transmembranaires répartis en deux domaines hydrophobes (M1 et M2) et deux domaines cytoplasmiques catalyseurs (C1 et C2) subdivisés en deux sous-domaines a et b (Krupinski et Cali, 1998). Plusieurs isoformes d'AC ont été identifiées : ceux-ci contiennent entre 1064 et 1353 acides aminés disposés en 12 hélices alpha transmembranaires et une masse d'environ 120-150 kilo Daltons (Krupinski et al., 1989; Taussig et Zimmermann, 1998). Jusqu'à présent, les chercheurs ont réussi à identifier dix isoformes d'AC répartis en cinq groupes. Selon Sunahara et Taussig (2002), le premier groupe comprend les AC sensibles à la stimulation par les ions calciums ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et à la calmoduline (CaM), soit AC1, AC3 et AC8. Le deuxième groupe correspond aux AC stimulés par le complexe  $\beta\gamma$  de la protéine G, soit AC2, AC4 et AC7. Les AC5 et AC6 forment le troisième groupe d'isoformes et se distinguent par leur propension à être inhibés par la sous-unité  $\alpha_i$  de la protéine G ( $\text{G}\alpha_i$ ) et  $\text{Ca}^{2+}$ . L'AC9 diverge des autres groupes par son insensibilité suite à une stimulation par la forskoline (Sunahara et Taussig, 2002). Finalement, la solubilité de l'AC soluble (ACs) en fait une cyclase vraiment distincte chez les mammifères d'autant plus qu'elle est similaire aux cyclases retrouvées dans les cyanobactéries. En

général, tous les AC transmembranaires sont distribués au travers les tissus excitables, tels les neurones et les muscles, mais ils n'y sont pas restreints (Sunahara et al., 1996; Sunahara et Taussig, 2002).

Une fois activée, l'adénylate cyclase transforme l'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine monophosphate cyclique (AMPc). La synthèse du second messenger AMPc permet l'activation des protéines effectrices, tel la protéine kinase A. Ces protéines assureront la réponse cellulaire définitive, soit la modulation de l'état de phosphorylation des protéines, la régulation des canaux ioniques et/ou l'expression génique (Taussig et Zimmermann, 1998). La stimulation des isoformes de l'AC des mammifères est assurée par le complexe GTP- $\alpha$  de la protéine G stimulante (G $\alpha$ s) ainsi que par la forskoline. En effet, la forskoline active tous les isoformes d'AC (excepté l'AC9) à de faibles concentrations micromolaires (Krupinsky et al., 1998; Taussig et Zimmermann, 1998). À son tour, la sous-unité G $\alpha$ s stimule la molécule enzymatique AC de façon synergique et non-compétitive avec la forskoline. Parallèlement, l'administration de fluorure de sodium (NaF), dans un environnement contenant des traces d'aluminium (Al) et de magnésium (Mg), active les protéines Gs et Gi (Antonny et al., 1993; Borasio et al., 2004). En présence de Mg, les ions fluorures et aluminium forment un complexe  $AlF_x$  qui imite le phosphate  $\gamma$  de la molécule de GTP. Le complexe  $G\alpha(GDP-AlF_x)Mg$  devient alors actif et libre d'exercer son action sur l'AC. Également, en présence suffisante de Mg, les ions F- peuvent se lier au Mg et créer un complexe actif avec la molécule  $G\alpha GDP$

[G $\alpha$ (GDP-MgF<sub>3</sub>)Mg] qui possède une structure similaire aux molécules G $\alpha$ (GDP-AlF<sub>x</sub>)Mg et G $\alpha$ (GTP)Mg (Antonny et al., 1993).

L'inhibition de l'enzyme transmembranaire est assurée par le complexe G $\alpha$ i même si le mécanisme d'action de cette molécule reste incertain (Hurley, 1999). Cependant, le site de liaison du complexe sur la molécule d'AC a été démontré par Dessauer et al. (1998). En effet, alors que le complexe G $\alpha$ s se lie à l'enzyme par une cavité formée à partir des boucles  $\alpha$ 1- $\alpha$ 2 et  $\alpha$ 3- $\beta$ 4 du domaine catalytiques C2, G $\alpha$ i s'adjoindrait à une cavité analogue dans le domaine catalytique C1. Il est également important de constater que les types d'AC I, II, VII et VIII sont relativement résistants à l'inhibition de G $\alpha$ i.

### **5) Réponse cellulaire**

La transformation de l'ATP en AMPc par l'adénylate cyclase assure l'augmentation de la concentration du second messenger dans la cellule et permet l'activation des protéines effectrices, entre autres la protéine kinase A (PKA). L'AMPc est impliquée dans la médiation d'une variété de procédés cellulaires comprenant le contrôle de plusieurs phénomènes métaboliques, la sécrétion hormonale, la contraction musculaire et des fonctions cognitives comme la mémoire (Houslay et Koch, 2000). L'AMPc serait généré dans des compartiments cellulaires près de la membrane plasmatique mais sa diffusion à partir de ces compartiments vers l'espace libre du cytosol serait entravée par une barrière tridimensionnelle composée en partie de la membrane du réticulum endoplasmique (Rich et al., 2001). La



concentration d'AMPC pourrait alors être mesurée selon deux bassins divisés par une barrière de diffusion: le bassin «AMPC membranaire» et le bassin «AMPC cellulaire total» (Schwartz, 2001). Compte tenu de l'existence de ces deux bassins, Rich et al. (2001) suggère qu'il est possible à l'AMPC d'engendrer différentes réponses dans une même cellule à un même moment. Ainsi, différents signaux pourraient influencer de manière divergente une même protéine effectrice cible, par exemple la PKA, selon la localisation de cette dernière à l'intérieur de la cellule. Ce sont les protéines d'ancrage A-kinase (AKAP) qui guident les PKA dans les régions cellulaires associées à la réponse cellulaire « désirée ».

Tel que mentionné précédemment, la cible intracellulaire fondamentale de l'AMPC est la protéine effectrice PKA (Taylor et al., 1990). Il s'agit d'une holoenzyme tétramérique comprenant deux sous-unités régulatrices et deux sous-unités catalytiques. La liaison du second messenger AMPC aux sous-unités régulatrices causent la dissociation des sous-unités catalytiques. Ces monomères effecteurs assureront la phosphorylation des protéine-cibles impliquées dans la voie signalétique à l'intérieur du noyau cellulaire (Karlsson et al., 1993 ; Adachi et Hamer, 1998).

Une des cibles principales de PKA est le facteur de transcription CREB (élément de réponse de liaison régulateur de l'AMPC) qui détermine plusieurs actions exercées par la cascade AMPC sur l'expression génique (Chen et al., 2001). Les sous-unités catalytiques de PKA phosphorylent CREB sur l'acide aminé Ser133. Cette phosphorylation provoque le recrutement de la protéine liant CREB (*CREB-binding protein*: CBP) et provoque l'activation ou l'inhibition de la transcription (Schulman,

1995). En effet, le facteur de transcription CREB se lie à une série d'acides aminés spécifiques retrouvés dans le promoteur de plusieurs gènes codant le bagage neuronal et, ainsi, régule leur transcription (Dwivedi et al., 2003). Ainsi, plusieurs chercheurs ont montré qu'une surexpression de CREB produisait des effets antidépresseurs dans des modèles comportementaux animaux reconnus de la dépression (Chen, 2001 ; Shirayama et al., 2001). Une diminution du facteur de transcription CREB a également été observée, en post-mortem, dans des cerveaux de patients dépressifs et/ou suicidaires par rapport à des sujets non-atteints (Dwivedi et al., 2003 ; Yamada et al., 2003). L'implication de CREB dans la pathologie de la dépression est également corroborée par l'étude de Koch et al. (2002). Ces chercheurs ont en effet montré une augmentation significative de CREB-P (état phosphorylé) a été mesurée chez chaque patient dépressif amélioré par un traitement antidépresseur de deux semaines en comparaison aux patients non-améliorés. Le comportement de CREB suite à l'administration d'antidépresseurs ne semble cependant pas être observé par tous. En effet, les études de Manier et al. (2001), Sulser (2002) et I-Ching et al. (2003) n'observent pas une augmentation de CREB suite à l'administration d'antidépresseurs. Malgré cette divergence, les résultats de l'étude de Koch et al. (2002) ainsi que ceux des études de Nibuya (1996) et Duman (2002) permettent d'élaborer l'hypothèse qu'une diminution de CREB contribuerait à la pathophysiologie de la dépression alors que son augmentation contribuerait à la réponse thérapeutique.

CREB peut également induire la synthèse du *brain derived neurotrophic factor* (BDNF), un facteur neurotrophique essentiel à la survie neuronale dans le

système nerveux central (West et al., 2001). BDNF assurerait la survie neuronale par l'inactivation des éléments compris dans les voies métaboliques conduisant à la mort cellulaire comme la cascade MAP kinase ou PI3-kinase/Akt. De même, BDNF favorise la survie cellulaire en stimulant des facteurs de transcription assurant l'expression de gènes de survie, tel Bcl-2 (West et al., 2001). Or, la dysfonction de ces éléments de survie cellulaire et de plasticité neuronale essentiels au fonctionnement adéquat de la mémoire et de l'apprentissage contribuerait à la pathophysiologie des troubles de l'humeur. En effet, l'augmentation de la neurogénèse chez le rat déprimé par un traitement antidépresseur corrèle avec les améliorations comportementales (Castrén, 2004). La suractivation de la voie cellulaire AMPc/CREB/BDNF par l'administration d'antidépresseurs assurerait donc l'amélioration des performances comportementales chez les sujets dépressifs et dépendrait de l'activité des protéines G dans le système limbique.

## SYSTÈME LIMBIQUE

### 1) Généralités

En 1878, le neurologue Paul Broca remarqua que, sous le cortex et à la surface médiane du cerveau de mammifères, se trouvait un amas de matière grise qu'il désigna lobe limbique (Afifi et al., 1998). Cette zone comprend l'amygdale, l'hippocampe, l'hypothalamus, le cortex préfrontal, le cortex cingulé et le noyau septal (Afifi et al., 1998). Cet assemblage de structures phylogénétiquement très anciennes assurerait la réponse émotionnelle (e.g. *fight or flight*), viscérale (préparation de l'organisme aux comportements possibles) et subjective (expérience émotionnelle) et serait ainsi responsable du contrôle de l'humeur (Young et al., 2004). De plus, les structures limbiques régulent l'homéostasie interne ainsi que les besoins primordiaux, tels la faim et la soif. Dans le contexte du présent mémoire, il est toutefois plus important de se rappeler que le système limbique joue un rôle essentiel dans les fonctions cognitives comme l'apprentissage, la mémoire, la réponse au stress et la sécrétion hormonale (Kelly et al., 1997 ; Sweatt, 2004; Young et al., 2004). Les structures pour lesquelles nous avons déterminé l'activité de l'adénylate cyclase et la densité des protéine Gi et Gs sont l'amygdale, l'hippocampe, l'hypothalamus, le cortex préfrontal, le cortex cingulaire et le noyau caudé.

## 2) Amygdale

L'amygdale, une structure limbique importante dans la mémoire affective et dans la régulation de l'expression émotionnelle, particulièrement la peur, se situe dans la partie inféromédiane du lobe temporal, sous le cortex et à l'extrémité antérieure de l'hippocampe (McDonald, 1998). On subdivise habituellement l'amygdale en deux régions : les noyaux basolatéraux et centromédians (Stephan et Andy, 1977). L'amygdale possède plusieurs afférences venant du néocortex, de l'hippocampe, de l'hypothalamus, du tronc cérébral, du striatum et du gyrus cingulaire (Davis and Whalen, 2001). En particulier, l'amygdale module le comportement émotionnel et motivationnel par ses connections partant du noyau basolatéral vers l'hypothalamus et le tronc cérébral, structures renfermant l'essentiel du réseau neuronal qui en est responsable. Ces projections amygdalo-corticales empruntent deux voies majeures : la voie ventrale amygdalofuge et la *stria terminalis*, responsable des réponses comportementales de nature réflexive (McDonald, 1998). Une connection efférente de l'amygdale est le striatum, fondamentale dans les réponses comportementales volontaires liées à des événements émotionnels (McDonald, 1998).

La reconnaissance des stimuli d'importance émotionnelle et motivationnelle est assurée par les nombreuses connections cortico-amygdalaires. En effet, chaque système sensoriel (dont les bulbes olfactifs) a des projections qui convergent vers l'amygdale, plus précisément vers le noyau basolatéral, souvent par l'entremise d'autres structures corticales ou limbiques (cortex préfrontal, thalamus, etc.)

(McDonald, 1998). L'amygdale peut ainsi traiter les informations émotionnelles, soit explicites (venant des cortex sensoriels) ou subliminales (venant du thalamus), provoquées par des stimuli présents dans l'environnement (Bechara et al., 2003). Ainsi, ces stimuli à valeur innée ou reconnus comme agréables ou déplaisants (par apprentissage) induisent automatiquement un état somatique évoqué par des structures effectrices telles l'hypothalamus, le striatum ventral, la matière grise périaqueducale et d'autres noyaux du tronc cérébral (Bechara et al., 2003). L'amygdale sert donc de zone de convergence-divergence entre les cortex primaires ainsi qu'associatifs (en plus du thalamus) et les structures effectrices.

La classification des sub-divisions de l'amygdale est complexe et conflictuelle d'un auteur à l'autre. Cependant, des évidences histochimiques et de neurotransmission ont démontré que les noyaux médian et cortical postérieur de l'amygdale seraient les seules projections majeures des bulbes olfactifs et projetteraient ensuite vers d'autres régions corticales et vers le striatum, respectivement (Swanson and Petrovich, 1998). De plus, certaines subdivisions de l'amygdale seraient fonctionnellement liées aux systèmes corticaux olfactifs. En effet, suite à une bulbectomie olfactive, la densité des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques ainsi que leur affinité seraient augmentées dans l'amygdale et dans l'hippocampe de rats et serait diminuées suite à l'administration chronique d'antidépresseurs (Richardson et Tiong, 1999). Suite à cette bulbectomie, les rats ont démontré des variations de production d'AMPC en plus d'un déficit d'apprentissage dans un test d'évitement passif (*passive avoidance*) (Richardson et Tiong, 1999). Ainsi, la réduction de l'activité noradrénergique dans l'amygdale et les déficits

comportementaux constatés chez les rats bulbectomisés nous incitent à supposer que l'activité de l'AC et la densité des protéines G dans l'amygdale seront perturbées suite à une bulbectomie bilatérale.

### **3) Hippocampe**

L'hippocampe est une structure allongée localisée à l'intérieur du mur inférieur médian du lobe temporal, postérieur à l'amygdale et faisant partie du système limbique (Sweatt, 2004). Cette structure est subdivisée en quatre régions, appelées Corne d'Ammon (CA1 à CA4), selon la morphologie des neurones pyramidaux et leurs sensibilités à l'anoxie (Campbell et McQueen, 2004). L'hippocampe ainsi que le gyrus dentelé et le subiculum constituent la formation hippocampale alors que le gyrus parahippocampal comprend les cortex entorhinal, périrhinal et parahippocampal (Campbell et McQueen, 2004; Guzowski et al., 2004; Squire et al., 2004.).

Le cortex entorhinal représente la principale source de projections corticales de l'hippocampe, par l'entremise de la voie neuronale «perforante» (Amadio et al., 2004, Squire et al., 2004). Le cortex entorhinal reçoit principalement les signaux corticaux des cortex adjacents périrhinal et parahippocampal qui, à leur tour, reçoivent des projections venant des lobes frontal, temporal et pariétal en plus du cortex rétrosplénial (Squire et al., 2004). Les cellules pyramidaux de la région CA1 de l'hippocampe se projettent soit sur le subiculum et ensuite sur le noyau antérolimbique par l'entremise du fornix, soit sur le cortex entorhinal à travers

duquel les fibres neuronales atteignent le cortex associatif temporal inférieur, le cortex préfrontal et le pôle temporal (Campbell et McQueen, 2004). Ainsi, l'hippocampe se trouve à la fin d'une hiérarchie de traitement cortical et représenterait le point de contact entre les lobes frontal et temporal.

Le glutamate est le principal neurotransmetteur synthétisé dans l'hippocampe. Environ 90% des neurones pyramidaux et granulaires sont glutamatergiques alors que le 10% restant représente les interneurones produisant de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA) (Campbell et McQueen, 2004). Également, des récepteurs cholinergiques nicotiniques, noradrénergiques et sérotoninergiques retrouvés dans CA1 indiquent la présence d'autres neurotransmetteurs (Campbell et McQueen, 2004). L'hippocampe serait la région pour l'entreposage temporaire d'informations avant que la consolidation ait lieu dans les structures corticales et serait l'unique structure sur laquelle dépendrait la mémoire épisodique, chez l'humain, et la mémoire spatiale, chez l'animal (Amadio et al., 2004). Également, l'apprentissage dépendrait d'une architecture cognitive comprenant l'hippocampe, le cortex postérieur, le cortex frontal et les ganglions de la base (Atallah et al., 2004). Certains types de plasticité synaptique (potentialisation à long terme et dépression à long terme) seraient essentiels aux processus de mémorisation et d'apprentissage chez les mammifères (Nguyen et Woo, 2003 ; Kemp et Manahan-Vaughan, 2004).

Des études sur la drosophile ont démontré l'implication de la voie signalitique de l'AMPC/PKA dans la plasticité synaptique et la mémoire à long terme (Nguyen et Woo, 2003). Sheline et al., (2002) suppose que les diminutions de volume observées



pour l'hippocampe de patients déprimés pourraient être conséquents à des épisodes d'hypercortisolémies, d'une sensibilité accrue aux neurotoxiques glutamatergiques ou d'une réduction du facteur neurotrophique BDNF et de la neurogénèse. Également, une réduction non significative de la concentration d'AMPc a été montrée dans l'hippocampe latéral de rats bulbectomisés par comparaison à celle des rats témoins (Vagell et al., 1991). Par conséquent, nous estimons que l'activité de l'AC sera réduite et/ou que la densité des protéines G sera altérée dans l'hippocampe, suite à l'ablation des bulbes olfactives.

#### **4) Hypothalamus**

L'hypothalamus entoure le troisième ventricule et est antérieur au thalamus avec lequel il forme le diencephale (Swaab et al., 1993). Plusieurs études récentes indiquent que les fonctions de l'hypothalamus, avec ses nombreuses interconnexions avec les structures du tronc cérébral et le système limbique, sont d'intégrer les réponses autonomiques et endocrines avec le comportement, plus spécifiquement, les comportements impliqués dans l'homéostasie de l'organisme.

L'hypothalamus se subdivise en trois parties en vue frontale (latérale, médiane et périventriculaire) ou en trois parties en vue médiane (région préoptique, niveau tubéral et niveau postérieur) (Swaab et al., 1993; Williams et al., 2000). La partie la plus antérieure de l'hypothalamus surplombant le chiasme optique se nomme la région préoptique. Cette région, qui comprend l'horloge circadienne interne (noyau suprachiasmatique), est surtout reliée à l'intégration des différents influx

d'informations sensorielles nécessaires pour reconnaître les déséquilibres homéostatiques tels la pression sanguine, la température corporelle et différents cycles d'activité (reproduction, etc.) La partie médiane de l'hypothalamus comprend les noyaux ventromédian, dorsomédian, paraventriculaire, supraoptique et argué. Le noyau paraventriculaire est formé, entre autres, de composantes endocrines magnocellulaires et parvocellulaires contrôlant l'hypophyse antérieure et postérieure. De plus, ce noyau joue un rôle important dans la régulation des réponses autonomiques par l'entremise de ses projections dans les neurones préganglioniques parasympathiques et sympathiques du tronc cérébral. Les noyaux ventro- et dorsomédians projettent surtout de façon locale à l'intérieur de l'hypothalamus et la matière grise périaqueducale et peut ainsi contrôler les fonctions intégratives complexes : croissance, maturation, alimentation et reproduction (Swaab et al., 1993). Finalement, le tiers postérieur de l'hypothalamus inclut le corps mamillaire et la région hypothalamique postérieure. La région postérieure constitue un groupe de cellules histaminergiques important dans la régulation de l'éveil et de la vigilance appelé noyau tubéromamillaire.

Les noyaux majeurs de l'hypothalamus sont principalement situés dans la partie médiane et sont liés au tronc cérébral, à l'amygdale, au proencéphale et au cortex cérébral par l'entremise du faisceau télencéphale médian; une voie fibreuse longitudinale. Une deuxième voie, cette fois composée de fibres paraventriculaires, lie l'hypothalamus à la matière grise périaqueducale dans le tronc cérébral. L'hypothalamus régule des besoins physiologiques de base essentielles tels la pression sanguine et la concentration d'électrolytes par le contrôle de la satiété et la

tonicité vasomotrice. Également, il régule la température corporelle ainsi que l'énergie du métabolisme par l'entremise du contrôle de la faim, la digestion et le rythme métabolique. De plus, l'hypothalamus assure la régulation de la reproduction par le contrôle hormonal de la gestation et de la lactation. L'hypothalamus contrôle aussi les réponses physiologiques et immunologiques d'urgence au stress par l'entremise de la régulation du flot sanguin musculaire et la sécrétion d'hormones de stress adrénérgiques (Flament-Durand, 1980).

Pour réaliser ses fonctions intégrantes, l'hypothalamus a recours à trois mécanismes principaux. D'abord, il a accès aux informations sensorielles provenant de tout l'organisme et il reçoit donc des influx directement du système sensoriel viscéral, de la rétine et des bulbes olfactifs. Ensuite, en se servant des nombreux neurones sensitifs internes sensibles aux variations de température locale, d'osmolarité, de glucose et de sodium, l'hypothalamus compare les informations sensorielles rapportées avec des étalons de mesures biologiques. Il compare, par exemple, la température locale d'une région préoptique à l'étalon biologique de 37°C et, face à une divergence, active les mécanismes appropriés. Finalement, suite à un déséquilibre d'un procédé physiologique de base, l'hypothalamus doit ajuster un éventail de réponses autonomiques, endocriniennes et comportementales pour rétablir l'homéostasie (Williams et al., 2000). L'hypothalamus ainsi que le thalamus régulent les signaux émotionnels périphériques et fournissent au cortex l'information nécessaire pour le traitement cognitif des émotions (Kruk et al., 1998; Pan et McNaughton, 2004).

Une hyperactivation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien chez les patients déprimés a été démontré par de nombreuses études (Holsboer, 2000; Nestler et al., 2002; Barden, 2004). Des études post-mortem de patients déprimés ont démontré une diminution de récepteurs des *corticotropin-releasing factor* (CRF) dans le noyau paraventriculaire, pouvant être associée à l'augmentation des niveaux de CRF de ce noyau (Nestler et al., 2002). Ainsi, nous pourrions supposer que la densité des protéines G couplées à ces récepteurs diminuera dans les modèles animaux de la dépression.

Des cellules mitrales du bulbe olfactif accessoire projettent presque exclusivement aux régions de l'amygdale ayant des connections à l'hypothalamus (Swanson et Petrovich, 1998). Le bulbe olfactif accessoire stimule des régions de l'hypothalamus impliquées dans la physiologie et le comportement reproductif qui n'est pas consciemment perçu (Hart et al., 1985). Les perturbations des rythmes circadiens (augmentation de la température, de l'activité locomotrice, etc.) ainsi que le dérèglement de certaines fonctions physiologiques basales (perte d'appétit, baisse de vigilance) régulées par l'hypothalamus nous incite à supposer que l'activité de l'AC sera diminuée dans cette structure chez les rats bulbectomisés (Bunney et Bunney, 2000). Cependant, une étude de Vagell et al. (1991) a montré que, suite à une bulbectomie, la concentration de l'AMPc, synthétisé par l'AC, dans le noyau suprachiasmatique augmentait de façon significative.

## **5) Cortex préfrontal**

Le cortex préfrontal peut être subdivisé en trois régions : le cortex préfrontal latéral, médian et orbitofrontal ou ventral (Dalley et al., 2004). La partie latérale comprend les cortex insulaires agranulaires dorsal et ventral ainsi que les cortex orbitaux latéraux (Dalley et al., 2004). La région médiane est divisée en une partie dorsale incluant le cortex précentral et le cortex cingulaire antérieur ainsi qu'une partie ventrale incluant le cortex prélimbique, infralimbique et orbitomédian (Dalley et al., 2004 ; Morgane et al., 2005). Le cortex préfrontal ventral, lui, est délimité par le cortex orbitoventral et orbitoventral latéral (Dalley et al., 2004). Chez le rat (Morgane et al., 2005), la plupart de ces structures reçoivent des influx afférents du noyau thalamique dorsomédian tandis que le cortex préfrontal ventral et médian ferait partie du système limbique associatif et serait en connection directe avec certaines structures limbiques tels l'amygdale et le cortex cingulaire (Morgane et al., 2005 ; Opris et Bruce, 2005). En plus des connections réciproques thalamo-corticales, le cortex préfrontal reçoit des nombreuses projections subcortico-corticales provenant, entre autres, de la substance noire, l'aire tegmentaire ventrale, l'amygdale, l'hippocampe et l'hypothalamus latérale (Dalley et al., 2004). Des connections réciproques projettent vers ses structures et vers le striatum, le mésencéphale, le septum latéral, le noyau *accumbens* et des régions autonomiques du tronc cérébral (Dalley et al., 2004). Le cortex préfrontal détient également des connections cortico-corticales avec les régions auditives, somatosensorielles et, principalement, visuelles (Opris et Bruce, 2005) en plus de cibler, de façon réciproque, les systèmes de

neurotransmissions cholinergique (acétylcholine) et monoaminergique (noradrénaline, sérotonine, dopamine) du cortex cérébral (Dalley et al., 2004).

Les sous-divisions du cortex préfrontal exercent chacune une influence sélective sur une des fonctions remplies par cette structure. Elles influencent le comportement émotionnel et motivationnel, assurent des fonctions complexes telles la mémoire « de travail » et jouent un rôle important dans l'attention, la cognition, le contrôle exécutif et l'inhibition comportementale (Morgane et al., 2005).

En effet, le raphé dorsal (RD) reçoit presque tous ses afférences corticales du cortex préfrontal médian ventral (CPFmv) (Amat et al., 2005; Jankowski et Sesack, 2004). L'étude de Amat et al.(2005) montre que le CPFmv est impliqué dans la régulation de l'activité sérotoninergique du RD et que son inhibition élimine les différences comportementales des rats témoins par rapport aux rats expérimentaux dans le modèle de soumission apprise de la dépression. En effet, après l'inhibition du CPFmv, les rats soumis à un stress contrôlable montrent des comportements semblables aux rats soumis à un stress non-contrôlable et augmentent l'activation sérotoninergique du RD. L'implication du CPF dans les fonctions cognitives et exécutives lui permettrait d'empêcher l'hyper-activation sérotoninergique dans le système limbique (via le RD) et ainsi, réduire la désensibilisation des récepteurs 5-HT et le déséquilibre monoaminergique qui en découle.

De même, Celada et al. (2001) stipulent que le mécanisme impliqué dans ce comportement neuronal évoquerait l'importance des auto-récepteurs 5-HT<sub>1</sub> du CPFm.

En effet, la stimulation du CPFm aurait comme effet premier d'augmenter la libération de 5-HT dans le RD (contraire à Amat et al., 2005). Cependant, la liaison de 5-HT aux auto-récepteurs 5-HT<sub>1</sub> du RD et du CPFm hyperpolariserait les neurones 5-HT et diminuerait la libération de 5-HT. Combinée à une inhibition GABAergique provenant entre autre de neurones de la matière grise périacqueductale, une stimulation du CPFm causerait une réduction de la libération de 5-HT dans le RD (Celada et al., 2001) ce qui empêcherait l'apparition des comportements observés dans les modèle de dépression animal et chez les patients déprimés.

Ces données concordent avec plusieurs études cliniques qui montrent une diminution volumique, neuronale et fonctionnelle du CPF de patients déprimés. Le cortex préfrontal antéro-latéral dorsal et dorso-médian de patients déprimés exprimeraient une diminution anormale du flot sanguin cérébral et du métabolisme du glucose en plus d'une diminution de l'activité physiologique générale (Drevets, 1999). De plus, Rogers et al. (2004) relèvent que de nombreuses études démontrent une réduction de l'activité métabolique dans le cortex préfrontal dorso-latéral, particulièrement dans l'hémisphère gauche de patients souffrant de dépression majeure. Ainsi, nous estimons que l'activité de l'AC dans le cortex préfrontal sera réduite chez les rats déprimés.

## **6) Cortex cingulaire**

Le cortex cingulaire entoure la surface dorsale du corps calleux. Anciennement divisé en deux sous-structures, antérieur et postérieur (Vogt et al.,

1992), le cortex cingulaire serait plutôt sous-divisé en quatre régions distinctes selon la cytoarchitecture, les connections et les fonctions (Vogt et al., 2005). Ces régions sont le cortex cingulaire antérieur (CCA), le cortex cingulaire médian (CCM), le cortex cingulaire postérieur (CCP) et le cortex rétro-splénial (CRS) (Vogt et al., 2005). Le CCA a été décrit comme une jonction neuronale entre la cognition et l'émotion étant donnée ses nombreuses connections limbiques et au cortex préfrontal dorsal (Rogers et al., 2004). En effet, le CCA est une cible principale des afférences de l'amygdale alors qu'une faible voire aucune connection ne s'effectue de l'amygdale vers le CCM et le CCP/CRS respectivement (Vogt et Vogt, 2003). Cette région jouerait ainsi un rôle dans le contrôle des réponses affectives et autonomiques par ses différentes afférences avec le tronc cérébral (Vogt et Vogt, 2003). D'ailleurs, le cortex moteur viscéral est une partie du cortex cingulaire dans laquelle une lésion cause une *abulia*, à savoir une condition dans laquelle le patient ne démontre plus de réactions émotionnelles aux stimuli externes. (Vogt et al., 2005). En contraste, les projections pariétales inférieures sont nombreuses au travers du CCM et du CCP tandis qu'elles sont inexistantes au niveau du CCA. Ces évidences concordent avec plusieurs critères neurobiologiques telle la régulation directe du CCM sur les fonctions moteurs squelettiques (Vogt et Vogt, 2003).

L'implication du cortex cingulaire dans la physiopathologie de la dépression est démontrée par des études d'imagerie. Par exemple, Drevets (1999) cite que certaines régions du cortex cingulaire, dans la dépression majeure et bipolaire, montreraient une diminution du métabolisme et du flot sanguin cérébral. Cependant, ces diminutions pourraient être attribuées aux variations de la taille des structures



impliquées de façon directe ou indirecte (projections afférentes) au cortex cingulaire déprimé (Drevets, 2001). Tout de même, nous estimons que l'activité de l'adénylate cyclase pourrait être perturbée (réduite) étant donnée l'étanche liaison entre le CCA et l'amygdale ainsi qu'une réduction rapide des capacités exécutives et de l'action dues à une lésion du cortex cingulaire (Devinsky. et al., 1995).

## **7) Noyau caudé**

Le noyau caudé et le putamen proviennent embryologiquement de la même masse cellulaire et forme une unité fonctionnelle qui correspond au striatum (ou néostriatum). Le noyau caudé prend la forme d'un C entourant la démarcation latérale du ventricule latéral (Herrero et al., 2002; Levitt et al., 2002). Cette structure possède une large tête, un corps dorsal allongé et une queue mince suivant une voie longeant, du côté ventral, la corne temporale du ventricule et se terminant au corps amygdalien (Herrero et al. 2002). La tête du noyau caudé est connectée avec le putamen par des ponts étroits de matière grise au niveau du noyau *accumbens* (striatum ventral). Le noyau caudé, le putamen et le noyau sous-thalamique composent les noyaux des ganglions de la base captant l'influx tandis que le *globus pallidus* et la substance noire forment les noyaux projetant l'influx, surtout vers les noyaux thalamiques et le cortex frontal (Levitt et al., 2002). Ces cinq structures formant les ganglions de la base sont interconnectées par des voies directes et indirectes (Afifi, 2003).

Le putamen est une cible du cortex sensori-moteur alors que le noyau caudé reçoit de nombreuses projections non-réciproques provenant du cortex associatif

(cortical/limbique), principalement du cortex préfrontal dorsolatéral (Levitt et al., 2002). Alors que le striatum régule la mémoire procédurale, cette connection, ainsi que des études d'imagerie fonctionnelle et de métabolisme gluconique, laisse croire que le noyau caudé joue un rôle considérable dans la mémoire à court terme (ou de « travail ») (Levitt et al., 2002). Également, étant la principale cible striatale des projections corticales non-moteurs du cortex préfrontal, une lésion ou pathologie du noyau caudé entraînerait des déficits neurocomportementaux semblables à une pathologie du cortex préfrontal non-moteur (Levitt et al., 2002). Ainsi, de nombreuses études citant des réductions anormales d'activité physiologique, de métabolisme gluconique et/ou de flot sanguin cérébral dans le cortex préfrontal d'animaux et d'humains déprimés (Drevets, 1999 ; Rogers et al., 2004) semblent prédire des perturbations physiologiques dans le noyau caudé de rats déprimés. Nous estimons donc que ces perturbations physiologiques se traduiront par des perturbations de l'activité de l'adénylate cyclase. De plus, une hyperactivité locomotrice présente chez les rats bulbectomisés pourrait être conséquente à des perturbations de l'AC dans le noyau caudé causées par la bulbectomie étant donné l'implication des ganglions de la base dans le contrôle moteur.

## **BULBES OLFACTIFS COMME ÉLÉMENT DU SYSTÈME**

### **LIMBIQUE**

Chez l'humain, les neurones sensoriels olfactifs se trouvent dans une petite région de la cavité nasale dorsale postérieure. Ces neurones projettent leurs axones dans le bulbe olfactif, une structure ovale qui repose sur la plaque cribreuse de l'os ethmoïde, dorsal et supérieur à la cavité nasale (Song et Leonard, 2005). Ainsi les cellules mitrales recevant l'influx des neurones sensoriels, projettent l'information sensorielle vers le cortex olfactif par le tractus olfactif (Leonard et al., 1981; Song et Leonard, 2005). Le cortex olfactif se divise en cinq structures recevant des projections directes des bulbes : le noyau olfactif antérieur (qui relie les bulbes), le tubercule olfactif, le cortex piriforme, l'amygdale et le cortex entorhinal. Les quatre dernières structures énumérées projettent l'information vers le cortex orbitofrontal par le thalamus et vers le cortex frontal par l'entremise de connexions directes. Aussi, l'information olfactive est transmise de l'amygdale vers l'hypothalamus et du cortex entorhinal vers l'hippocampe (Van Riezen et Leonard, 1990; Kelly et al., 1997). Des lésions au cortex orbitofrontal chez l'humain rend la discrimination des odeurs impossible ; ce qui explique que la voie thalamo-orbitofrontal serait responsable de la perception et de la discrimination des odeurs. En parallèle, les voies olfactives amygdaliennes et hypothalamiques joueraient un rôle dans la régulation des aspects émotionnels, motivationnels, physiologiques et comportementaux de l'olfaction (Leonard et al., 1981; Kelly et al., 1997).

L'information sensorielle serait vraisemblablement traitée et même raffinée dans les bulbes olfactifs avant la projection de l'influx au cortex olfactif. En effet, une source probable du raffinement du signal serait les projections multiples du cortex cérébral, du prosencéphale basal (branche horizontale de la bande diagonale) et du cerveau médian (locus coeruleus et raphé). Ces connections pourraient établir des manières de moduler les fonctions des bulbes olfactifs de façon à ce que l'information sensorielle puisse définir des comportements significatifs, différents selon l'état physiologique de l'animal (Song et Leonard, 2005).

## MODÈLE ANIMAL DE LA DÉPRESSION : BULBECTOMIE OLFACTIVE

### (OBX)

#### 1) Généralités

L'ablation bilatérale des bulbes olfactifs semble être un des meilleurs modèles animal de la dépression pour élucider la neurobiologie des troubles dépressifs ainsi que les mécanismes d'action pharmacologique des antidépresseurs (Jesberger et Richardson, 1985 ; Kelly et al., 1997). En effet, les rats soumis à une bulbectomie olfactive présentent des troubles neuronaux qui engendrent des perturbations physiologiques, biochimiques et comportementales similaires à celles observées chez les patients souffrant d'une dépression majeure (Jesberger et Richardson, 1985 ; Kelly et al., 1997 ; Wrynn et al., 2000). Contrairement à d'autres modèles animaux (soumission apprise, stress chronique modéré, etc.), le modèle OBX est le seul modèle animal de dépression sensible à l'administration chronique d'antidépresseurs de différentes classes (Jesberger et Richardson, 1988 ; Van der Stelt et al., 2005 ). Ces perturbations seraient attribuées à une réorganisation et une croissance neuronale compensatoire, des variations de la résistance synaptique ainsi que des changements adaptatifs des régions sous-corticales, secondaires à la destruction des bulbes olfactifs (Cairncross et al., 1979 ; Wrynn et al., 2000). En effet, la destruction des fibres efférentes issues des corps cellulaires des bulbes olfactifs projetant vers les structures limbiques qui utilisent l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA) serait responsable des troubles associés à ce modèle. Aussi, la destruction des fibres afférentes issues des projections noradrénergiques et sérotoninergiques, causerait les altérations

comportementales et physiologiques perçues dans le modèle OBX (Cairncross et al., 1979).

## **2) Altérations biochimiques**

L'ablation bilatérale des bulbes olfactifs provoque des changements de concentration des neurotransmetteurs et de leurs récepteurs (Kelly et al., 1997 ; Song et Leonard, 2005 ; Van der Stelt et al., 2005). D'abord, la concentration de noradrénaline corticale est diminuée dans le modèle OBX de la dépression (Van Riezen et Leonard, 1990). Une augmentation de la densité des adrénorécepteurs  $\beta$  dans les lymphocytes et dans le complexe amygdalien ainsi que des adrénorécepteurs  $\alpha_2$  dans des régions corticales des rats bulbectomisés serait consécutive de la réduction de NA disponible (Van Riezen et Leonard, 1990 ; Song et Leonard, 2005). Ces changements biochimiques sont réversibles par l'administration d'antidépresseurs (King et Cairncross, 1974 ; Song et Leonard, 2005).

L'observation d'une diminution sérotoninergique dans le modèle OBX valide davantage celui-ci étant donné l'acceptation générale de l'implication d'une déficience de ce neurotransmetteur dans la pathophysiologie de la dépression (Kelly et al., 1997 ; Song et Leonard, 2005). Ces anomalies du système sérotoninergique sont surtout perceptibles dans l'amygdale, le cortex frontal et le tronc cérébral (Redmond et al., 1997) et sont contrées par un traitement antidépresseur (Song et Leonard, 1995). La densité du récepteur 5-HT<sub>2</sub> serait augmentée dans le cerveau de rats OBX (Earley et al., 1994) ainsi que dans les plaquettes de patients déprimés

(Butler et Leonard, 1988) et serait également réversible par l'administration d'antidépresseurs.

L'étude de Van Riezen et Leonard (1990) montre que l'ablation bilatérale des bulbes olfactifs provoque un déséquilibre entre les acides aminés excitateurs et inhibiteurs. En effet, alors que les concentrations de glycine s'élèvent (Harvey et al., 1975), celles du glutamate et de l'aspartate diminuent (Scholfield et al., 1983 ; Collins, 1984) dans le cerveau de rats OBX. Également, une diminution de la densité des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) est observée dans plusieurs structures corticales et sous-corticales (Dennis et al., 1993 ; Robichaud et al., 2001) alors qu'une augmentation de la densité de ces récepteurs est observée dans le cortex préfrontal (Webster et al., 2000 ; Robichaud et al., 2001)

Par ailleurs, une augmentation du GABA a été observée dans le cerveau de rats bulbectomisés (Jancsar et Leonard, 1984). Une augmentation de la densité des récepteurs GABA-A est conséquemment observée alors que la densité des récepteurs GABA-B est diminuée dans le cortex préfrontal de rats OBX (Dennis et al., 1993).

### **3) Altérations physiologiques**

L'ablation bilatérale des bulbes olfactifs, par la perturbation des afférences et des efférences, peut causer le dérèglement des rythmes circadiens de l'animal (Marcilhac et al., 1997 ; Holmes et al., 1998). En effet, Vagell et al. (1991), ont montré une augmentation de 83.6% du niveau basal d'AMPc dans le noyau

suprachiasmatique de rats bulbectomisés, région de l'hypothalamus contrôlant les rythmes circadiens de l'organisme, comparés à des rats témoins. D'autres changements cellulaires retrouvés dans l'hypothalamus, par exemple une réduction de la concentration du récepteur 5-HT<sub>2</sub> (Song et Leonard, 1995), contribuent au dérèglement circadien étant donné que les afférences sérotoninergiques du noyau suprachiasmatique sont impliquées dans la régulation des rythmes circadiens (Prosser et al., 1990 ; Shioiri et al., 1991). D'autres études, en concordance avec les précédentes, montrent que les rats bulbectomisés changent leurs habitudes alimentaires sans modifier la quantité totale de nourriture consommée (Meguid et al., 1993 ; 1997), ont de la difficulté ou sont incapables de réguler leur température interne (Forster et al., 1980 ; Kelly et al., 1997) et présentent une diminution de la fréquence des épisodes de sommeil paradoxal (Sakurada et al., 1976 ; Kelly et al., 1997).

Les niveaux de corticostérone basaux mesurés dans le sang de rats OBX sont significativement plus élevés que pour des rats non-bulbectomisés dans des conditions non-stressantes (Marcilhac et al., 1999). Les niveaux de glucocorticoïdes des rats augmentent à des valeurs exorbitantes avec la présence d'un stresseur (Cairncross et al., 1977 ; Marcilhac et al., 1999). L'hyperactivité de l'axe hypothalamo-hypophyso-surénalien (HHS) observée chez les rats OBX serait partiellement causée par l'effet stimulant de la 5-HT dont l'activité hypothalamique est significativement plus élevée en présence d'un stresseur comparativement à des rats témoins (Marcilhac et al., 1999). Cependant, une réduction globale de 5-HT est perçue chez le rat OBX ainsi que chez des patients déprimés. L'étude de Marcilhac et



al. (1999) montre que, malgré une diminution significative de 5-HT dans l'amygdale de rats OBX, on perçoit aucune différence significative de niveau 5-HT dans l'hypothalamus de rats OBX (quoiqu'une augmentation non-significative est visible) et une augmentation significative de corticostéroïdes plasmatiques. Ceci s'explique par d'autres résultats de l'étude qui ne montrent aucune différence significative entre les niveaux de corticostéroïdes plasmatiques ainsi que les niveaux de 5-HT dans l'hypothalamus de rats OBX comparés aux rats OBX injectés avec du fluoxétine alors qu'une augmentation de 5-HT est perçue dans l'amygdale suite à l'injection de fluoxétine. Donc, on peut supposer que les niveaux de 5-HT dans l'hypothalamus seraient responsables de l'hyperactivation de l'axe HHS alors qu'un traitement antidépresseur basé sur l'augmentation de 5-HT dans l'amygdale améliore certains aspects comportementaux mais laisse les aspects biochimiques de l'hypothalamus de rats OBX intacts.

Ainsi, l'ablation des bulbes olfactifs perturbe les rythmes circadiens de l'organisme par la dégénérescence des projections monoaminergiques entre les bulbes olfactifs, les stimuli viscéraux et l'hypothalamus impliqués dans la régulation de l'horloge biologique (Marcilhac et al., 1997). L'ablation des bulbes olfactifs provoque chez le rat une diminution de la densité des synapses et des boutons dendritiques dans le cortex piriforme (Hall et Macrides, 1983 ; Song et Leonard, 2005). Des changements semblables s'appliqueraient à la région CA1 et CA3 de l'hippocampe (Song et Leonard, 2005), et seraient réversibles suite à l'administration chronique d'antidépresseurs (Duman et al., 1997). De plus, Campbell et al. (2004) ont effectué une méta-analyse de plusieurs études cliniques mesurant le volume de

structures corticales de patients dépressifs et ont conclu que les patients souffrants de dépression ont un volume hippocampal inférieur aux participants sains. Duman et al. (2001) suggèrent que l'ablation des bulbes olfactifs augmente la vulnérabilité de l'animal aux impacts néfastes du stress environnemental, telle la neurodégénérescence synaptique des structures limbiques.

#### **4) Altérations comportementales**

Il serait raisonnable de supposer que l'anosmie serait responsable des déficits comportementaux du modèle OBX. En effet, Leonard et Tuite (1981) confirment que la destruction de la projection vomeronasale vers l'amygdale empêche l'animal de détecter les phéromones. Ces signaux chimiques jouent un rôle important dans les comportements de reproduction, d'évitement, de dominance et d'agression de l'animal (Song et Leonard, 2005). Cependant, aucune perturbation comportementale majeure comparable à celles du modèle OBX n'a été observée suite à l'introduction d'une solution de zinc dans les cavités nasales de rats, causant l'anosmie (Cairncross, 1976). L'augmentation de l'activité d'exploration locomotrice des rats soumis à un environnement à champ ouvert (par exemple, le test *open field*) est une variation comportementale universellement reconnue dans le modèle OBX (Van Riezen et Leonard, 1990, Kelly et al., 1997). Ce phénomène s'explique par la difficulté d'habituation du rat à un nouvel environnement dû à l'anosmie résultante de l'ablation des bulbes olfactifs. Le rat est alors incapable de devenir familier avec son nouveau milieu étant donnée la perte de son sens principal. Également, la destruction des connexions entre les bulbes olfactifs et les centres limbiques supérieurs

(amygdale, hippocampe, etc.) contribuent à l'hyperactivité des rats OBX (Kelly et Leonard, 1995). Ce changement comportemental souligne le rôle primordial que joue l'interaction entre l'environnement et l'organisme dans l'activité locomotrice (Primeaux et Holmes, 1999).

Le contrôle de l'impulsion des rats serait un autre élément divergent dans le modèle OBX de la dépression. D'après Bizot et al. (1988), les rats privés de nourriture sont propices à choisir une petite quantité de nourriture accessible immédiatement plutôt qu'une grande quantité de nourriture accessible en différé dans un labyrinthe en T. Dans une variation de ce test, les rats OBX choisissent significativement plus la grande quantité de nourriture après un délai comparativement aux rats témoins qui préfèrent généralement la petite quantité de nourriture immédiatement (Kelly et Leonard, 1996).

Également, en se basant sur le test du labyrinthe aquatique de Morris (1981), des déficits d'apprentissage et d'orientation spatiale ont été constatés chez les rats OBX (Kelly et Leonard, 1993 ; Song et Leonard, 2005). Ces déficits cognitifs sont réversibles par l'administration d'antidépresseurs (Redmond et al., 1994). Les résultats de ces études suggèrent donc que les déficits de mémoire et d'apprentissage constatés chez les rats bulbectomisés seraient causés par un dysfonctionnement de l'hippocampe (Song et Leonard, 2005). En concordance avec cette hypothèse, des déficits de mémorisation lors d'un test d'évitement passif ont été constatés (Joly et Sanger, 1986 ; Song et Leonard, 2005). Ainsi, en plus d'être des caractéristiques

étroitement reliées au modèle OBX, ces variations comportementales valident le rat bulbectomisé comme un modèle animal de la dépression (Kelly et al., 1997).

## OBJECTIFS

L'objectif de cette étude est de déterminer l'impact d'une ablation bilatérale des bulbes olfactifs sur l'activité de l'adénylate cyclase ainsi que sur la densité des protéines G inhibitrices et stimulantes dans le système limbique. Cette étude devrait élucider le lien causal entre les concentrations des différentes protéines G et les variations de l'activité de l'adénylate cyclase attendues.

L'ablation des bulbes olfactifs provoque des perturbations physiologiques, biochimiques et comportementales semblables à celles observées chez les patients déprimés (Jesberger et Richardson, 1985). Également, plusieurs recherches montrent qu'une perturbation fonctionnelle du système limbique serait responsable des désordres dépressifs (Mayberg, 1999 ; Blier, 2001 ; Duman, 2002 ; Nestler, 2002 ; Nettle, 2004).

De plus, nous savons qu'une neuroplasticité déficiente et une résistance cellulaire anormale pourraient contribuer aux désordres affectifs en favorisant la mort neuronale ainsi que l'atrophie des structures limbiques et paralimbiques (Vaidya et Duman, 2001). La plasticité neuronale et la formation de la mémoire peuvent être influencées par plusieurs facteurs, dont certaines voies signalétiques impliquant l'adénylate cyclase et les protéines G (Stewart et al., 2001; Sulser, 2002) ainsi que des voies de signalisation dépendantes des ions calcium (Silva et al., 1998; Mayford et Kandel, 1999). Dans cette optique, des études récentes montrent que la régulation

de l'activité de l'AC se produit directement par la sous-unité  $\alpha$  des protéines G ou indirectement par la sous-unité  $\beta\gamma$  par l'intermédiaire des canaux calcium/calmoduline (Coleman et Sprang, 1996, Clapham et Neer, 1997).

Ainsi, nous estimons qu'il était important d'évaluer les conséquences de l'ablation bilatérale des bulbes olfactifs sur l'activité de l'adénylate cyclase dans le système limbique et de déterminer si les variations de cette activité sont attribuables à la densité des protéines G inhibitrices et/ou stimulantes.

## HYPOTHÈSES

**H1 : *Hypothèse principale*** : l'activité de l'AC sera perturbée au niveau basal ainsi que suite à une stimulation par forskoline et fluorure de sodium dans les huit structures du système limbique à l'étude dans notre protocole, soit l'amygdale latérale, l'amygdale médiane, l'hippocampe, l'hypothalamus latéral, l'hypothalamus médian, le cortex préfrontal, le cortex cingulaire et le noyau caudé.

**H1b** : l'activité de l'adénylate cyclase sera diminuée dans l'hippocampe, l'hypothalamus, le cortex préfrontal et le cortex cingulé après la bulbectomie.

**H2 : *Hypothèse principale*** : la densité des protéines Gi et Gs variera avec les perturbations (augmentation ou diminution) de l'activité de l'AC stimulée par NaF.

**H2b** : la densité des protéines Gi sera augmentée et/ou la densité des protéines Gs sera diminuée dans l'hippocampe, l'hypothalamus, le cortex préfrontal et le cortex cingulé après la bulbectomie.

**ARTICLE**



### CONTRIBUTION DES AUTEURS

J'ai effectué une partie des chirurgies de bulbectomie ainsi qu'une partie des analyses de l'adénylate cyclase (avec Boubacar P. Wann). J'ai effectué seul l'analyse des protéines G.

Harry Webster était un chercheur à l'hôpital du Sacré-Coeur au début du projet et il était co-directeur de maîtrise de Boubacar P. Wann, avec Dr Guy Rousseau. Ce dernier et Dr Roger Godbout sont mes co-directeurs et, à ce titre, ils ont initié et supervisé le projet dont est tiré l'article, et nous ont aidé (Boubacar P. Wann et moi) à rédiger l'article.

## EFFECT OF OLFACTORY BULBECTOMY ON THE ACTIVITY OF ADENYLYL CYCLASE IN THE LIMBIC SYSTEM

Brian D'Anjou<sup>1,4</sup>, Boubacar P. Wann<sup>1,4</sup>, Harry H. Webster<sup>1,2</sup>, Roger Godbout<sup>1,2</sup> and  
Guy Rousseau<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Centre de Recherche, Hôpital du Sacré-Cœur

<sup>2</sup>Department of Psychiatry, <sup>3</sup>Department of Pharmacology, Université de Montréal

<sup>4</sup>Contributed equally to this work

**Number of pages: 19**

**Number of figures: 4**

**Number of tables: 0**

Address for correspondence:  
Guy Rousseau, Ph.D.  
Centre Biomédecine Hôpital du Sacré-Cœur  
5400 Boul. Gouin Ouest Montreal (Québec)  
H4J 1C5 Canada  
Phone: (514)-338-2222, ext.3421  
Fax: (514)-338-2694  
E-mail: [REDACTED]

### Acknowledgements

We wish to thank the technical support team of animal care of the biomedical research centre of Hôpital du Sacré-Cœur. G.R. is bursar of the FRSQ. This project is supported by the NSERC.

**Key words: Depression, bulbectomy, adenylyl cyclase, limbic system, G proteins**

## **ABSTRACT**

Adenylyl cyclase and cyclic AMP are key elements in the biochemical physiopathology of depressive disorders. This study was designed to determine adenylyl cyclase activity and Gi and Gs protein content in the limbic system of olfactory bulbectomized rat, an animal model of depression. Two weeks following OB, adenylyl cyclase activity was determined in basal, forskolin- and NaF-stimulated condition, by sequential chromatography on cationic exchange resin, and Gs/Gi content ratio was determined by Western blotting.

Compared to sham-operated rats, our results indicated that in the hypothalamus, frontal and prefrontal cortices adenylyl cyclase activity was reduced when stimulated with NaF. No significant difference was observed in the different portions when adenylyl cyclase activity was assessed in the basal of forskolin-stimulated condition. Determination of the Gs/Gi ratio indicated a significant reduction in the Gs/Gi ratio in the same regions where NaF-stimulated adenylyl cyclase activity was reduced.

These results indicated G protein changes are the major alteration observed in that model and may explain changes in the responsiveness in the different neurotransmitter observed in the bulbectomized rats.

## INTRODUCTION

The biochemical physiopathology of depression includes impairments in monoaminergic neurotransmission, including at the norepinephrine and serotonin neurotransmitter systems (Piñeyro et Blier, 1999). This defective neurotransmission has been identified in various structures of the limbic system, including prefrontal and frontal cortex, amygdala, hippocampus, hypothalamus and the caudate nucleus. Chronic administration of most antidepressant induces an increase of NE and serotonin neurotransmission as well as attenuated the change in the signaling pathways of both neurotransmitters (Blier, 2001). These neurotransmitters act through receptors that belong to G-protein coupled receptor family and can activate different effectors through G proteins (Avissar et al., 1996; Elhwuegi, 2004).

One of the effectors that receive attention in the context of depression and antidepressant treatment is the cAMP pathway. It has been observed that this signaling pathway is up-regulated by antidepressant treatment, leading to an increase in PKA activity and cAMP response element binding protein, a transcription factor that mediates increased brain derived neurotrophic factor (BDNF) expression (Nibuya, Morinobu et al. 1995; Duman, Heninger et al. 1997).

Many experimental models have been developed to study the neurophysiology of depression including stress associated learned helplessness (Seligman, 1972; Maier, 1984) restraint-induced depression (Berridge and Dunn, 1989) and chronic mild stress (Willner, 1997). However, these models do not mimic the clinical

situation in which antidepressant activity is detected with acute administration and not after several days or weeks of administration. In the bulbectomy model (OBX), on the contrary, antidepressants induce an effect following chronic but not acute treatment. The OBX model has been characterized, in the rat, at several levels including behavioral, neurochemical, endocrinological and immunological reflecting closely the changes seen in clinical depression (for reviews see Kelly, Wrynn and al. 1997). OBX rats show a decreased NE (Van Riezen and Leonard, 1990) and 5-HT (Kelly, Wrynn and al., 1997) neurotransmission as well as disturbed levels of glycine (Harvey et al., 1975), glutamate and aspartate (Collins, 1984) and gamma amino butyric acid (GABA) (Jancsar and Leonard, 1984). Also, increased motor exploration activity in rats is an accepted behavioral trait in the OBX model of depression (Van Riezen and Leonard, 1990, Kelly, Wrynn and al., 1997). Impulsion control is a typical variation observed in this model as well. OBX rats restrain from choosing immediate rewards and prefer a larger reward given after a significant delay in a T-maze test (Bizot et al., 1988). Furthermore, OBX rats display learning and spatial orientation deficits in the Morris aquatic maze (1981). Psychotropic drugs, namely antidepressants, have also been tested positively in the OBX model. However, there is a lack of information on second messenger systems involved in the OBX model. The present study was thus designed to determine if adenylyl cyclase activity and Gs/Gi content are modified in the OBX model of depression by investigating several relevant structures such as prefrontal and frontal cortex, amygdala, hippocampus, hypothalamus and the caudate nucleus.

## METHODS

### Animals

Sprague-Dawley adult male rats (350-400g) (Charles Rivers, Québec) were obtained through regular trade and housed individually in standard housing conditions: 12h/12h light/dark cycle, 28% relative humidity levels, constant 20-22°C room temperature and *ad libitum* food and water. After a five-day rest period, rats were divided in to an experimental group and a control group (see below). All experiments were performed according to CCPA.

### Surgical procedures

Surgical procedures were conducted individually, under sterile conditions. Sixteen rats were anaesthetized with halothane ventilation and placed in a stereotaxic apparatus; oxygen was regulated to 2 liters/minute. Skull was shaven and trepanned at approximately 2mm of diameter above the olfactory bulbs, approximately 6 mm on the rostral side of bregma. The olfactory bulbs were then aspirated with a vacuum pump in 16 rats (n = 16); vacant space was filled with a sterile sponge (Gelfoam). 0.1cc of duplocilline, an antibiotic, was injected to prevent infections and 0.05cc of torbugesic, an analgesic, was injected in rats after surgery. Rats were then returned to their own cage and examined daily for their well being. Sham rats (n = 19) underwent the same procedures except that olfactory bulbs were not actually removed.

Two weeks after surgery, the animals were sacrificed and brains were dissected on ice to obtain the following structures: lateral amygdala, medial

amygdala, lateral hypothalamus, medial hypothalamus, prefrontal cortex, frontal cortex, hippocampus and caudate nucleus.

### **Membrane preparation for adenylyl cyclase activity and G protein determination**

Tissue suspensions were homogenized with a polytron (10 second bursts at maximum speed). All centrifugations were performed at 4°C. The homogenates were centrifuged at 1000 g for 5 minutes. The resulting supernatant was collected and centrifuged at 40000 g during 20min. For adenylyl cyclase activity the pellet was suspended in a buffer containing 75 mM Tris-HCl pH 7.4, 5mM MgCl<sub>2</sub>, 2mM EDTA and protease inhibitors: 10 µg/ml benzamidine, 5 µg/ml de leupeptin et 5 µg/ml de trypsin inhibitor. Protein content was assessed using the method of Bradford (Bio-Rad, Hercules).

For G protein determination, the pellet was suspended in a lysis/solubilized buffer containing 50 mM Tris (pH 7.5), 20 mM β-glycerophosphate, 20 mM NaF, 5 mM EDTA, 10 mM EGTA, 1 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 10 mM benzamidine, 0.5 mM PMSF, 10 µg/mL Leupeptin, 5 mM DTT, 1 µM microcystin LR, and 1 % Triton X-100 for two hours at 4°C. After centrifugation (10000 g 15 min), protein content was assessed in the supernatant using the method of Lowry.

### **Adenylyl cyclase activity determination**

The adenylyl cyclase activity was determined according to the method of Salomon and al. (Salomon, Londos et al. 1974) (1974) for 8 OBX rats and 11 sham

rats. Briefly, the membrane preparations were incubated in 45 mM Tris-HCl pH 7.4, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 1,2 mM IBMX, 2,7mM of phosphoenolpyruvate, 1U of myokinase, 0,2 U kinase of pyruvate and 0.5 µCi of [<sup>32</sup>P] αATP. The activity was determined in the absence (basic activity) or in the presence of 100µM forskolin or 10 mM of NaF. The samples were incubated at 37°C for 30 minutes and the reaction was stopped by the addition of 1mL of a solution containing 360µM adenosine triphosphate (ATP), 280µM of cAMP and 25000 cpm of [<sup>3</sup>H]-AMP. cAMP was isolated by sequential chromatography on Dowex and aluminium oxide columns (Biorad). Results are reported as pmol/min/mg of membrane proteins.

### **Western blot of G protein**

Around 100µg of membrane preparation were loaded on a 10% SDS-PAGE gel and proteins were transferred onto a nitrocellulose membrane. After blockade, incubation with the primary antibody directed against G<sub>αi</sub> or G<sub>αs</sub> (Santa Cruz, CA) at a concentration of 1:1000 overnight (4°C) was followed by three washes and by incubation with a secondary peroxidase-coupled antibody (anti-rabbit IgG-HRP from Santa Cruz, CA) at a concentration of 1:5000 for 1 hour. Renaissance chemiluminescence kit (NEN, Mississauga) was used to visualize the bands and the quantitative analysis was done with an ImageStation (Model 440CF, NEN, Mississauga). Each OBX rat (n = 8) and each sham rat (n = 8) was tested for both Gi and Gs density.



### Statistics

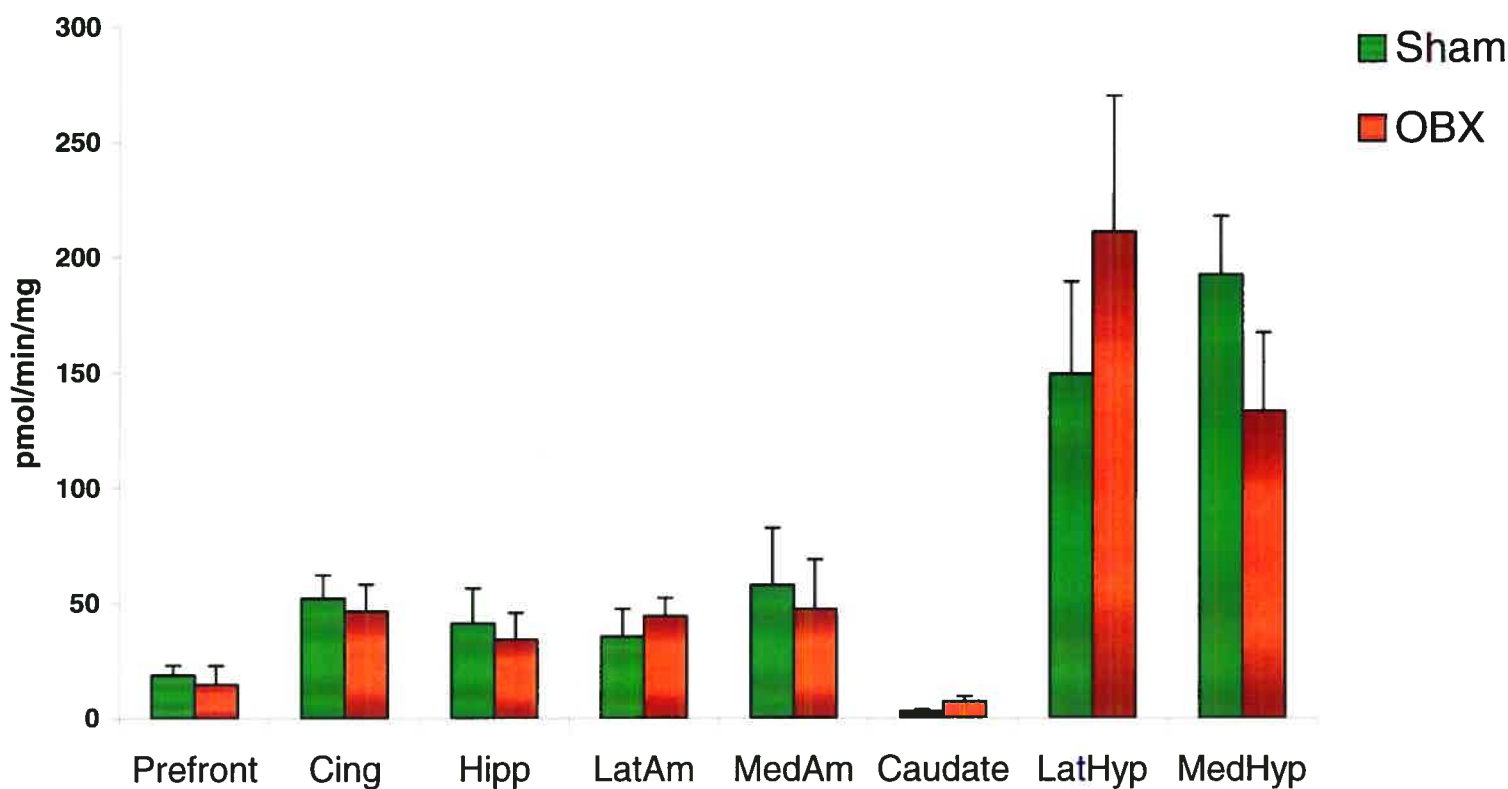
Statistical comparisons between the sham and bulbectomy groups were done by Student's T-test. Differences were considered significant when  $p < 0.05$ .

## RESULTS

### Adenylyl cyclase activity

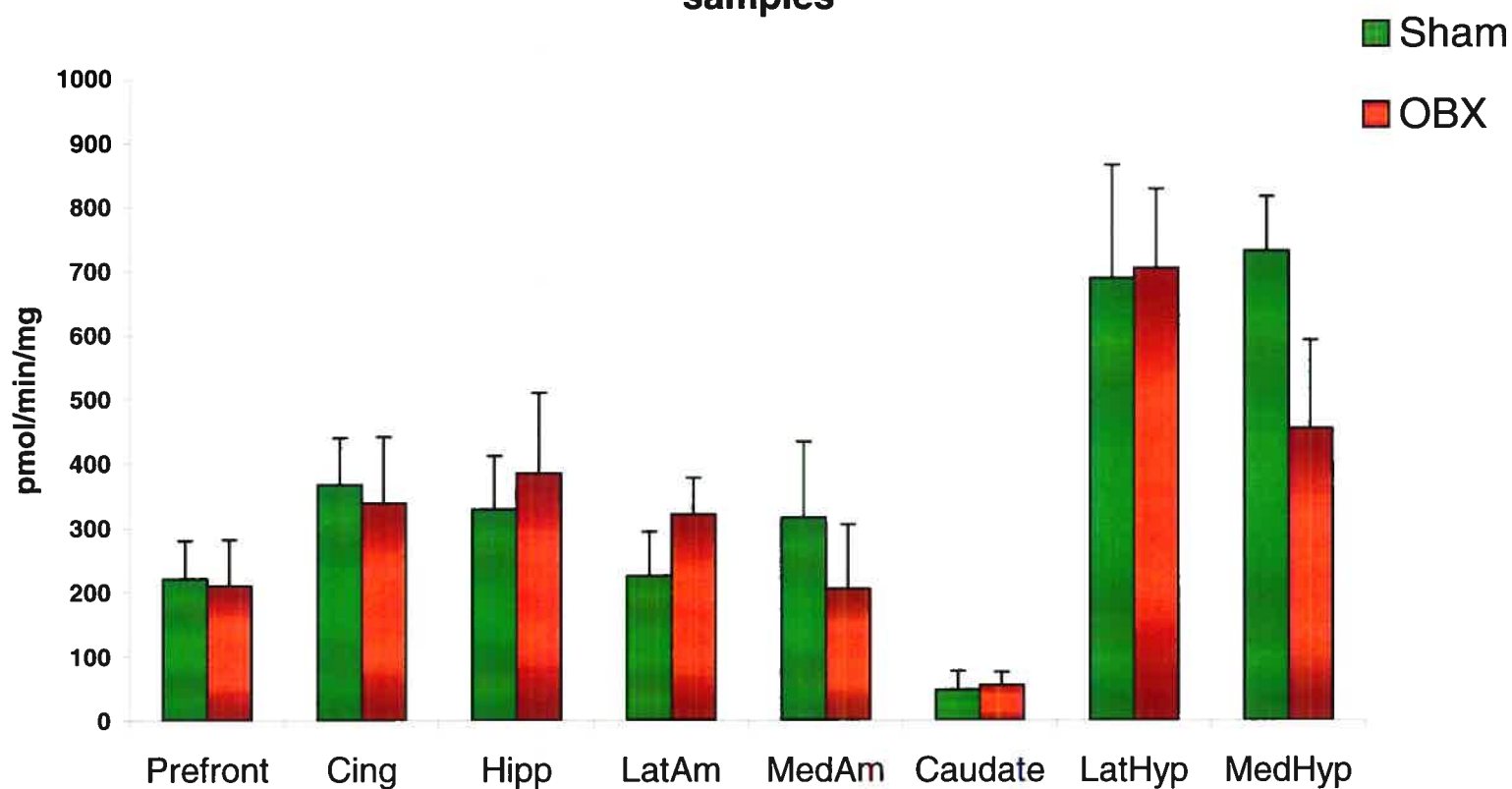
Determination of adenylyl cyclase activity indicated that the basal activity was unaffected in the different regions studied, two weeks after bulbectomy. In both groups, we observed that basal levels were high in the hypothalamus regions (lateral and medial) whereas the levels were low in the caudate nucleus and the frontal cortex (fig 1).

**Figure 1: Basal cyclic-AMP measures in rat brain samples**



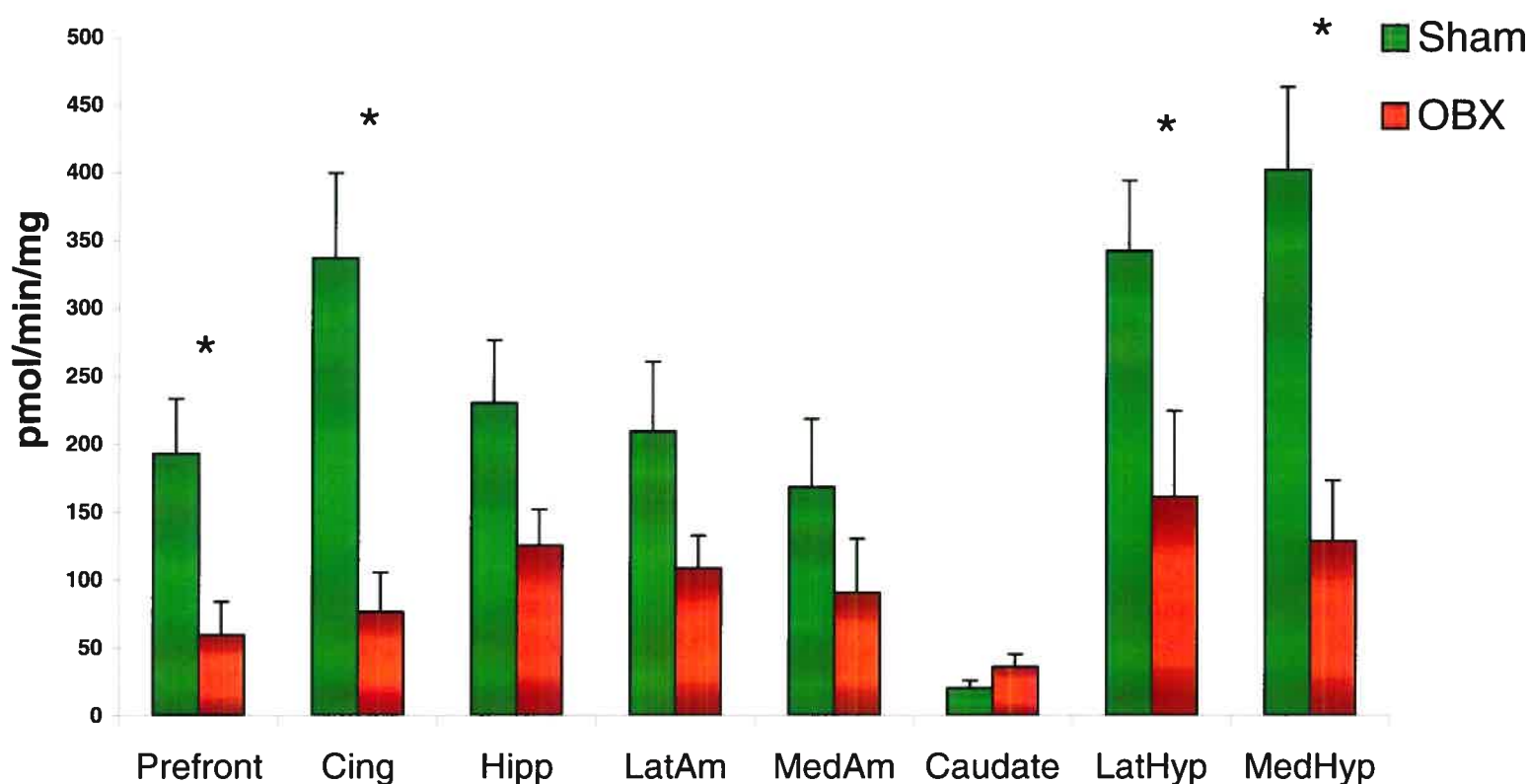
To test the effect of bulbectomy on the adenylyl cyclase activity itself, we use forskolin 100  $\mu$ M. Results obtained indicated that bulbectomy has no effect of the activity of adenylyl cyclase (Fig 2).

**Figure 2: Cyclic-AMP measures in forskoline-stimulated rat brain samples**



The effect of G protein in adenylyl cyclase activity was measured after NaF stimulation. The results obtained indicated that in presence of OBX, production of cAMP by NaF is reduced in four different regions: frontal and prefrontal cortices and lateral and medial hypothalamus whereas the production is not significantly affected in the other regions (Fig 3).

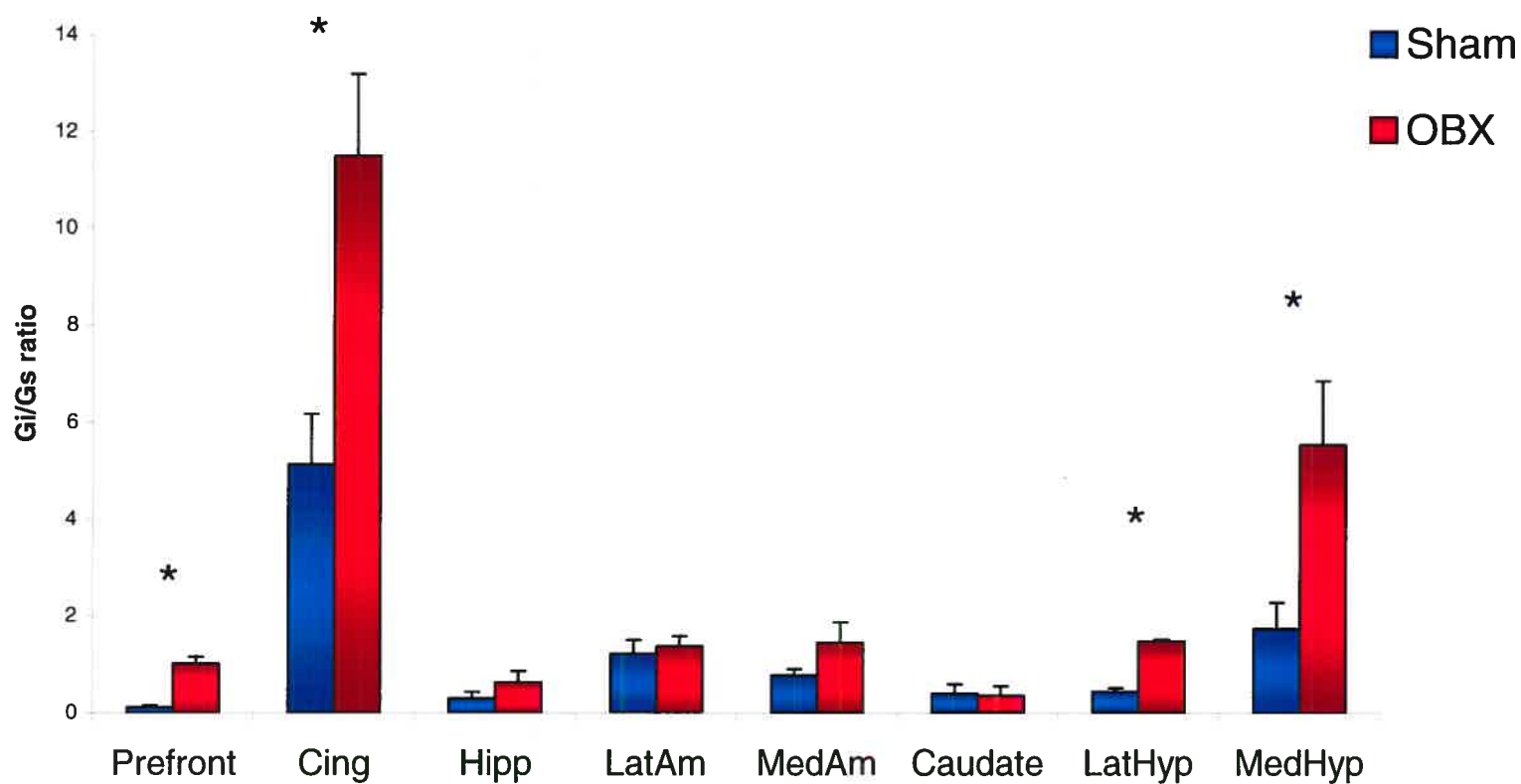
**Figure 3: Cyclic-AMP measures in NaF-stimulated rat brain samples**



### Gi/Gs ratio

Results obtained with NaF were further characterized by determining Gi/Gs content with western blot analysis. Results indicated that the Gi/Gs ratio of OBX rats was significantly higher in all regions where NaF response was impaired. (fig 4).

**Figure 4: Gi/Gs concentration ratio in rat brain samples**



## DISCUSSION

The results obtained in the present study indicate that basal and forskolin-induced adenylyl cyclase activity is similar in the limbic system of OBX and sham rats, two weeks after surgery. NaF-induced adenylyl cyclase activity, however, was significantly impaired in four limbic areas of OBX rats: prefrontal cortex, frontal cortex, lateral hypothalamus and medial hypothalamus. We also found a decreased Gi/Gs ratio in the same regions of OBX rats, showing that the impaired modulation of the adenylyl cyclase pathway in OBX rats is mainly due to a G protein defect.

Basal activities of the adenylyl cyclase in the different regions studied were not affected two weeks after the bulbectomy. Similar results was also obtained in learned helplessness model in the frontal cortex, striatum and hippocampus (Itoh, Abe et al. 2003). In contrast, in aged OBX rats (19 months), Slotkin et al. (1999) observed a significant reduction in the basal activity in the striatum but not in the cerebellum and Temporal/Occipital Cortex as compared to control rats. No significant changes were observed in the young OBX rats (9 weeks) similarly to our model (3-4 months). These results suggest the aging of the animal may influence the basal activity of the adenylyl cyclase in different conditions. Therefore, in a basal state the bilateral ablation of the olfactory bulbs does not significantly disturb the activity of adenylyl cyclase in the limbic system.

Human studies of depressed suicide victims also show normal basal activity of adenylyl cyclase, in temporal cortex and frontal cortex ( Dowlatshahi et al., 1999;

Reiach, Li et al. 1999, Valdizán et al., 2003). The same was found in the platelets and mononuclear leukocytes measured in blood specimens of depressed patients (Mooney et al., 1998; Samson et al. 1998), suggesting that depression has only a minor role on basal adenylyl cyclase activity.

Forskolin-stimulated adenylyl cyclase activity in OBX rats did not show significant changes either. This contrasts with results obtained by Slotkin et al., (1999) where young bulbectomized rats showed an increase of forskolin (and GTP and  $Mn^{2+}$ ) stimulated activity in the temporal/occipital cortex, the cerebellum and the striatum compared to aged rats. One possibility to explain this discrepancy is the age factor. These biochemical contrasts were accompanied by greater atrophy of the frontal/parietal cortex and midbrain in aged OBX rats. Cell signaling cascades also showed age-dependent effects, with increased adenylyl cyclase responses to monoaminergic stimulation in young OBX but no change or a decrease in aged OBX (Slotkin and al., 1999). Another explanation may be that we measured adenylyl cyclase activity two weeks after bulbectomy whereas Slotkin et al. (1999) measured it three weeks after bulbectomy. One possibility is a rebound effect in which adenylyl cyclase activity firstly decrease and then increase over the basal value. Another possibility concerns the areas studied: they found increases in areas that were not part of the eight we sampled and, conversely, the Slotkin et al. (1999) study did not include any of our areas in the three they studied.

NaF-stimulated adenylyl cyclase activity constitutes the major finding of this research, suggesting that G proteins must be affected in the OBX model. Western blot

analysis of Gi/Gs content corroborates this assumption. In the four regions of OBX rats in which NaF-stimulated adenylyl cyclase activity was reduced, we observed a significant increase in the Gi/Gs ratio.

The increase in Gi as compared to Gs tends toward a reduction of adenylyl cyclase as observed in the NaF-stimulated adenylyl cyclase. In the medial amygdala and the hippocampus, the ratio Gi/Gs increases about two times without reaching the statistical level suggesting that these regions are probably affected with a different time-course.

Changes in the G protein content have important effect on signal transduction particularly in which activated receptors modulated adenylyl cyclase activity. For example, it has been reported that corticotropin-release hormone is increased in the hypothalamus of OBX rats (Bisette, 2001). CRH, which functions as a neurotransmitter in a variety of extrahypothalamic brain regions, acts through a G-proteins coupled receptors. Stimulation of these receptors induces increase cAMP production by activation of the adenylyl cyclase. Increase in the ratio of Gi/Gs content in the hypothalamic region may thus result in a reduction in the signal generate by these receptors. Reduction of the CRH responsiveness has been observed in patients with MDD (Sachar, Hellman et al. 1973) as well as decreased in binding of CRF in the frontal cerebral cortex in suicides (Nemeroff, Owens et al. 1988), effects that can be amplified with a change in Gi/Gs ratio. However, the lack of studies containing a precise timetable for CRH measurement following OBX prevents the confirmation that OBX is responsible for a reduced corticotropin response in hypothalamus.



Another protein for which cAMP is important is the cAMP response element binding protein (CREB). It has been observed that overexpression of CREB results in an antidepressant effect evaluated by performance in two behavioral models of depression, the learned helplessness and the forced swim tests (Chen, Shirayama et al. 2001). Moreover CREB can be upregulated to chronic administration of different classes of antidepressants, including both NE and 5-HT selective reuptake inhibitors (Nibuya, Nestler et al. 1996).

In addition, it has been also observed that CREB can induce BDNF synthesis, a neurotrophic factor that contribute to survival of cells by a modulation of cell death cascades such as MAP kinase and PI3-kinase/Akt pathway. Indirect observations suggest that upregulation of the cAMP/CREB/BDNF pathway with antidepressant treatment increases performance in behavioral models of depression (Duman, Heninger et al. 1997; Duman, Malberg et al. 2000).

In conclusion, in OBX rats, change in the ratio of Gi/Gs in different regions must be responsible of the depressive behavior observed in that model. This change affects the responsiveness of G-protein coupled receptors coupled to adenylyl cyclase and can induce important change in behavior.

## REFERENCES

- Avissar, S., Barki-Harrington, L. et al. (1996). "Reduced beta-adrenergic receptor-coupled Gs protein function and Gs alpha immunoreactivity in mononuclear leukocytes of patients with depression." **39(9)**: 755-760
- Berridge, C. W., Dunn, A. J. (1989). "Restraint-Stress-Induced Changes in Exploratory Behavior Appear to Be Mediated by Norepinephrine-Stimulated Release of CRF." Pharmacol Biochem Behav. **34(3)**: 517-519.
- Bissette, G. (2001). "Effects of sertraline on regional neuropeptide concentrations in olfactory bulbectomized rats." Pharmacol. Biochem. Behav. **69**: 269-281.
- Bizot, J.C., Thiebot, M.H. et al.(1988). "Effects of imipramine-like drugs and serotonin uptake blockers on delay of reward in rats. Possible implication in the behavioural mechanism of action of antidepressants." J. pharmacol. Exp. Ther. **246**: 2244-2252.
- Blier, P. (2001). "Crosstalk between the norepinephrine and serotonin systems and its role in the antidepressant response." J Psychiatry Neurosci. **26**: Suppl:S3-10.
- Chen, A. C.-H., Y. Shirayama, et al. (2001). "Expression of the cAMP response element binding protein (CREB) in hippocampus produced an antidepressant effect." Biol. Psychiatry **49**: 753-762.
- Collins, G.G. (1984). "Amino acid transmitter candidates in various regions of the olfactory cortex following olfactory bulbectomy." Brain Res. **296**: 145-147.
- Dowlatsahi, D., MacQueen, G. M. et al. (1999) "G Protein-Coupled Cyclic AMP Signaling in Postmortem Brain of Subjects with Mood Disorders: Effects of

Diagnosis, Suicide, and Treatment at the Time of Death" J Neurochem. **73(3)**: 1121-1126.

Duman, R. S., G. R. Heninger, et al. (1997). "A molecular and cellular theory of depression." Arch. Gen. Psychiatry **54**: 597-606.

Duman, R. S., J. Malberg, et al. (2000). "Neuronal plasticity and survival in mood disorders." Biol.Psychiatry **48**: 732-739.

Elhwuegi, A. S. (2004). "Central monoamines and their role in major depression." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. **28(3)**: 435-451.

Harvey, J. A., Scholfield C. N., et al. (1975). "Putative transmitters in denervated olfactory complex." J Neurochem. **24(3)**: 445-449.

Itoh, T., K. Abe, et al. (2003). "Different regulation of adenylyl cyclase and rolipram-sensitive phosphodiesterase activity on the frontal cortex and hippocampus in learned helplessness rats." Brain Res. **991**: 142-149.

Jancsar, S., Leonard, B.E. (1984). "Changes in neurotransmitter metabolism following olfactory bulbectomy in the rat." Prog. Neuropsychopharmacol. Biol.Psychiatry. **8**: 263-269.

Kelly, J. P., A. S. Wrynn, et al. (1997). "The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: an update." Pharmacol. Ther. **74**: 299-316.

Maier, S. F. (1984). "Learned helplessness and animal models of depression." Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. **8(3)**: 435-446

Mooney, J. J., J. A. Samson, et al. (1998). "Signal transduction by platelets adenylate cyclase: alterations in depressed patients may reflect impairment in the

coordinated integration of cellular signals (coincidence detection)." Biol. Psychiatry **43**: 574-583.

Morris, M. (1981). "Spatial navigation does not require the presence of local cues." Learn. Motiv. **12**: 230-249.

Nemeroff, C. B., M. J. Owens, et al. (1988). "Reduced corticotropin-releasing factor (CRF) binding sites in the frontal cortex in suicides." Arch. Gen Psychiatry **45**: 577-579.

Nibuya, M., S. Morinobu, et al. (1995). "Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments." J. Neurosci **15**: 7539-7547.

Nibuya, M., E. J. Nestler, et al. (1996). "Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus." J. Neurosci **16**: 2365-2372.

Piñeyro, G., Blier, P. (1999). "Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action." Pharmacol Rev. **51**(3): 533-591.

Reiach, J. S., P. P. Li, et al. (1999). "Reduced adenylyl cyclase immunolabeling and activity in postmortem temporal cortex of depressed suicide victims." J. Affect. Dis. **56**: 141-151.

Sachar, E. J., L. Hellman, et al. (1973). "Disrupted 24-hour patterns of cortisol secretion in psychotic depression." Arch. Gen. Psychiatry **28**: 19-24.

Salomon, Y., C. Londos, et al. (1974). "A highly sensitive adenylate cyclase assay." Ana. Biochem. **58**: 541-548.

Seligman, M. E. (1972). "Learned helplessness." Annu Rev Med. **23**: 407-412.

Slotkin, T. A., D. B. Miller, et al. (1999). "Modeling geriatric depression in animals: biochemical and behavioral effects of olfactory bulbectomy in young versus aged rats." J. Pharmacol. Exp. Ther. **289**: 334-345.

Valdizán, E. M., Gutierrez, O. et al. (2003) "Adenylate cyclase activity in postmortem brain of suicide subjects: reduced response to beta-adrenergic stimulation." Biol Psychiatry. **54(12)**: 1457-1464.

Van Riezen, H., Leonard, B. E. (1990). "Effects of psychotropic drugs on the behavior and neurochemistry of olfactory bulbectomized rats." Pharmacol Ther. **47(1)**: 21-34.

Willner, P. (1997). "Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation." Psychopharmacology (Berl). **134(4)**: 319-329.

## DISCUSSION

Cette étude portait sur l'évaluation des effets de l'ablation bilatérale des bulbes olfactifs sur l'activité enzymatique de l'adénylate cyclase et sur la densité des protéines G dans le système limbique de rats. L'activité de l'adénylate cyclase a été mesurée à l'état basal ainsi qu'après une stimulation par la forskoline (indépendante des protéines G) et par le fluorure de sodium (NaF) (dépendante des protéines G). Nos résultats ont montré une diminution significative entre les rats bulbectomisés et les rats témoins seulement après une stimulation par le NaF, et ce dans quatre structures limbiques : le cortex préfrontal, le cortex cingulaire, l'hypothalamus latéral et l'hypothalamus médian. Aucune différence significative n'a été trouvée pour l'activité de l'adénylate cyclase dans les conditions basale et sous forskoline. Le ratio des densités des protéines Gi et Gs a montré une différence significative entre les rats bulbectomisés et les rats témoins dans les quatre mêmes structures que celles observées par la stimulation du NaF. Ceci confirme que ce sont les protéines G qui sont probablement l'élément clé de la transduction du signal dans le système limbique de ce modèle expérimental de la dépression.

### **1) Adénylate cyclase**

#### **1.1) Basal**

Les résultats obtenus montrent qu'à l'état basal, il n'y a aucune différence significative de l'activité de l'adénylate cyclase entre les rats témoins et les rats bulbectomisés pour chacune des structures à l'étude. Nos résultats concordent avec

ceux obtenus dans diverses études cliniques. Par exemple, dans une étude *postmortem* de sujets suicidés, aucune différence n'a été retrouvée dans l'activité de l'adénylate cyclase de cerveaux avec une histoire de dépression majeure et de cerveaux témoins (Valdizàn et al., 2003). Également, Hoffman et al. (2002) ont montré qu'il n'y a aucune différence significative de l'activité de l'adénylate cyclase dans les plaquettes de sujets avec des antécédents de dépression majeure comparée à des sujets témoins. Il y a, cependant, une étude récente qui infirme ces résultats. Hines et Tabakoff (2005) ont en effet trouvé une diminution significative de l'activité basale de l'adénylate cyclase dans les plaquettes de sujets ayant une histoire de dépression majeure comparée à des sujets sans histoire de désordres dépressifs. Il demeure que la mesure directe dans le tissu cérébral est un reflet beaucoup plus réaliste de la situation que l'utilisation de plaquettes circulantes dont l'activité peut être modulée par plusieurs facteurs, tel que la présence d'ion  $Mg^{++}$  (Pieroni et al., 1995), la désensibilisation des récepteurs de prostaglandines couplés aux protéines G sur les plaquettes (Mooney et al., 1988) et la diminution de la capacité de variation du battement cardiaque lié à l'âge ou à une pathologie cardiovasculaire (Mooney et al., 1998).

## 1.2) Forskoline

Notre étude montre qu'il n'y a aucune différence significative de l'activité de l'adénylate cyclase limbique suite à une stimulation par la forskoline entre les rats bulbectomisés et les rats témoins. Nos résultats sont en accord avec ceux de Lowther et al. (1996) et de Valdizán et al. (2003), dont les mesures ont été effectuées dans le

cerveau de sujets suicidés déprimés et comparées à celles des cerveaux de sujets suicidés témoins. Également, Young et al. (1996) ainsi que Mann et al. (1997) stipulent que l'activité de l'adénylate cyclase stimulée par la forskoline ne varie pas significativement dans les leucocytes mononucléaires (LMN) de sujets déprimés comparativement aux sujets témoins. Étant donnée que la forskoline stabilise le complexe  $G\alpha$ -adénylate cyclase et qu'elle favorise l'activation directe de l'enzyme, ces résultats nous suggèrent que l'activité de l'enzyme n'est pas affectée dans notre modèle de dépression. Cependant, les résultats obtenus dans d'autres études cliniques ne concordent pas avec ceux du présent mémoire. Hoffman et al. (2002) et Hines et Tabakoff (2005) montrent une réduction significative de l'activité de l'adénylate cyclase stimulée par la forskoline dans les plaquettes de sujets déprimés comparés à des sujets témoins. Les mêmes commentaires que précédemment peuvent être émis en ce qui concerne les mesures plaquettaires. De plus, il faut également tenir compte du délai entre l'apparition des symptômes et de la mesure. Dans notre modèle, nous savons que les mesures qui sont effectuées deux semaines après le début de la chirurgie correspondent au début des symptômes de dépression (Kelly et al., 1997). Dans les études cliniques, toutefois, les mesures sont faites à des temps différents après l'apparition de la maladie ce qui peut induire l'hétérogénéité de la réponse. Comme aucune étude de cinétique a été effectuée dans les modèles énumérés ici, nous ne savons pas si l'activité de l'adénylate cyclase varie dans le temps avec la progression de la maladie. En effet, une hypersensibilisation ou une augmentation adaptative de récepteurs NA ou 5-HT couplés aux protéines Gs pourrait coïncider avec le prélèvement des structures deux semaines après la bulbectomie. Il serait



également possible qu'une suractivation de l'axe HHS cause une désensibilisation des récepteurs glucocorticoïdes métabotropiques sur des structures impliquées dans le stress (Holboer, 2000). Cette désensibilisation pourrait se produire avant deux semaines et ne serait donc pas détectée par notre protocole, ce qui dissimulerait des résultats significatifs.

### **1.3) Fluorure de sodium (NaF) et protéines G**

Les résultats de notre étude montrent que l'activité de l'adénylate cyclase, stimulée par NaF est significativement réduite dans le cortex préfrontal, le cortex cingulé, l'hypothalamus latéral et l'hypothalamus médian des rats bulbectomisés comparée aux rats témoins. Aucune différence significative n'a été observée dans le cas de l'amygdale latérale, l'amygdale médiane, l'hippocampe et le noyau caudé. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par d'autres études et suggèrent un défaut au niveau des protéines G pour expliquer la perte de réactivité de l'adénylate cyclase dans la dépression (Mann et al., 1997; Dowlatshahi et al., 1999; Hoffman et al., 2002; Hines et Tabakoff, 2005). Toutefois, d'autres études cliniques n'ont pas observé de changements dans la réactivité de l'adénylate cyclase stimulée par le NaF (Newman et al., 1992) ou le fluorure de césium (CsF), un agent chimique remplissant les mêmes fonctions que le NaF (Menninger et Tabakoff, 1997). Encore une fois, les mesures ont été prises dans les plaquettes des sujets et sont donc empreintes des mêmes réserves qu'exprimées plus haut.

En déterminant le rapport des sous-unités  $\alpha$  des protéines Gi et Gs nous avons apporté une évidence supplémentaire que la perte de réactivité de l'adénylate cyclase stimulée par le NaF dans certaines régions du système limbique est liée à un changement dans la quantité soit des protéines G $\alpha$  inhibitrices (augmentation) ou des protéines G $\alpha$  stimulantes (diminution) dans le cortex préfrontal, le cortex cingulé, l'hypothalamus latéral et l'hypothalamus médian des rats bulbectomisés. L'augmentation du rapport Gi/Gs concorde avec la diminution de l'activité de l'adénylate cyclase induite par le NaF dans ces régions. Avissar et al. (1997) ont constaté une diminution significative de l'immunoréactivité et de la réponse fonctionnelle des protéines G $\alpha_i$  et G $\alpha_s$  dans les cellules sanguines périphériques de sujets dépressifs. Ces résultats confirment que les protéines G sont affectées dans la dépression. Toutefois d'autres études montrent une augmentation des niveaux de G $\alpha_s$  dans le cortex cérébral (Young et al., 1991; 1993) et les leucocytes mononucléaires (LMN) (Young et al., 1994) de sujets atteints du désordre bipolaire (DB). Le fait qu'une augmentation de G $\alpha_s$  a également été constatée dans les LMN de patients en phase manie (Avissar et Schreiber, 1992; Sperber et al., 2000) suggère une inversion entre les deux pôles des troubles de l'humeur quant à la réactivité des protéines G.

Les protéines G jouent un rôle majeur dans la transduction du signal, liant les ligands/récepteurs (neurotransmetteurs, hormones, etc.) aux fonctions effectrices intracellulaires (Avissar et Schreiber, 1992; Sperber et al., 2000). En modifiant la quantité des protéines G, le signal normalement transmis dans la cellule par le neurotransmetteur est affecté, ce qui diminue la production d'AMP cyclique, second

messenger important dans la transmission du signal comme nous le verrons un peu plus loin. Ceci est d'autant plus important que les protéines G sont également impliquées dans les mécanismes biochimiques requis dans le traitement antidépresseur des désordres dépressifs (Sperber et al., 2000). Plusieurs des traitements antidépresseurs interviennent au niveau de la sérotonine et de la norépinéphrine, deux neurotransmetteurs couplés aux protéines G. Or il a été démontré que des traitements antidépresseurs augmentent l'activité de l'adénylate cyclase et des protéines kinases AMPc-dépendantes (Menkes et al., 1983; Nestler et al., 1989; Dowlatshahi et al., 1999). Ainsi, on peut supposer que l'administration des antidépresseurs augmente les niveaux de protéines Gs ou diminue les niveaux de protéines Gi. Toutefois ceci reste spéculatif jusqu'à maintenant et une étude plus approfondie pourrait répondre à cette question.

Par ailleurs, nous n'avons pas trouvé de différences significatives dans l'hippocampe et l'amygdale, ce qui pourrait s'expliquer de trois façons. Premièrement, un décours temporel pourrait dissimuler des différences significatives présentes à d'autres moments qu'à deux semaines post-opératoire, moment où nous avons prélevé les structures. Les effets sur l'adénylate cyclase et les protéines G dans l'hippocampe et l'amygdale seraient alors visibles plus tôt ou plus tard que deux semaines suivant la bulbectomie. Deuxièmement, la présence de différences de l'activité d'adénylate cyclase ou du rapport Gi/Gs significatives pourrait être limitée à des sous-structures (CA1, CA3, gyrus dentelé) et donc être masquée par la mesure totale. Finalement, des mécanismes distincts, n'impliquant pas les protéines G ou l'adénylate cyclase, pourrait être en cause dans notre modèle animal de la dépression.

Par exemple, Wann et al., (sous presse) montrent que, dans le modèle animal de dépression post-infarctus du myocarde, il y a une augmentation significative de l'apoptose dans l'amygdale des rats. L'étude suggère que cette apoptose serait induite par un signal extracellulaire, via les cytokines. Également, l'implication de l'hippocampe dans l'hyperactivation de l'axe HHS observée chez les patients déprimés suggèrent des effets divergeants de la voie signalétique protéine G-adénylate cyclase-AMPC dans notre modèle animal de dépression. Ces effets incluraient des déficiences de plasticité et de survie cellulaire. Cette possibilité sera décrite plus en détail plus loin.

## **2) Les étapes complémentaires : CREB et BDNF**

Les facteurs de transcription sont des éléments cruciaux dans les voies de transduction du signal par lesquelles les cellules intègrent les stimuli physiologiques et environnementaux pour changer le statut transcriptionnel des gènes (Sulser, 2002). Une des cibles effectrices de la voie signalétique protéine G-adénylate cyclase-AMPC est le facteur de transcription CREB. CREB est un élément essentiel dans la régulation d'une variété de fonctions biologiques telles que la spermatogénèse, les rythmes circadiens et la mémoire à long-terme (Sulser, 2002).

De nombreuses études supportent l'implication de CREB dans la dépression majeure (Mayr et Montminy, 2001; West et al., 2001). Des études animales montrent que l'activité transcriptionnelle de CREB est augmentée suite à l'administration chronique d'antidépresseurs pendant deux semaines (Duman et al., 1997, 1998,

2000), particulièrement dans le gyrus dentelé (Nibuya et al., 1996; Thome et al., 2000). De plus, Chen et al., (2001) ont montré qu'une surexpression du facteur de transcription CREB induisait des effets antidépresseurs dans des modèles expérimentaux de la dépression. En effet, la surexpression de CREB dans le gyrus dentelé de rats a réduit le nombre de tentatives échouées d'échappements dans le test de soumission apprise et a réduit le temps d'immobilité dans le test de nage forcée (Chen et al., 2001). L'identification des gènes impliqués dans la transcription n'est pas encore totalement résolue car l'effet thérapeutique des psychotropes tels les antidépresseurs seraient médiés par des altérations dans l'expression de programmes de gènes plutôt que dans l'expression d'un seul gène (Sulser, 2002). À présent, toutes les molécules antidépresseurs activent les cascades signalétiques menant ainsi à l'activation des différentes protéines kinase tel PKA et, conséquemment, CREB (Sulser, 2002). Donc, il serait probable que l'augmentation du rapport Gi/Gs causerait une réduction de l'activité du facteur de transcription CREB par PKA ainsi qu'une altération de l'expression génique régulée par CREB.

CREB peut induire la synthèse du facteur neurotrophique BDNF, impliqué dans la survie neuronale du système nerveux central (West et al., 2001). BDNF inactive des éléments compris dans certaines voies métaboliques conduisant à la mort cellulaire et stimule des facteurs de transcriptions assurant l'expression de gènes de survie cellulaire (West et al., 2001). L'altération du rapport Gi/Gs pourrait engendrer des déficiences de plasticité neuronale et de survie cellulaire qui influencent la mémoire et l'apprentissage pouvant ainsi contribuer à la pathophysiologie de la dépression tel que décrite dans l'introduction (voir aussi Sulser, 2002; Balschun et al.,

2003; Fuchs et al., 2004; Hashimoto et al., 2004). En effet, la réduction de l'activation de la cascade protéine G-AMPC-CREB-BDNF causerait les modifications de mécanismes de plasticité neuronale, d'apoptose et/ou de neurogénèse observées dans certaines structures cérébrales impliquées entre autres dans la dépression. Par exemple, l'hippocampe des patients déprimés aurait un volume réduit et une arborisation neuronale restreinte pouvant être, entre autres, associés à une réduction de BDNF (Sheline et al., 2002). L'hippocampe exerce une rétroaction négative directe sur l'axe hypophysal-hypophyso-surrénalien (Barden, 2004). La liaison des glucocorticoïdes à leurs récepteurs (RG) exerce également un contrôle négatif sur l'axe HHS et atténue la réponse au stress (Barden, 2004). Cependant, la présence de niveau élevé de glucocorticoïdes cause la destruction de cellules possédant des RG dans l'hippocampe qui contrôle la suppression de la *corticotropin-releasing hormone* (CRH) dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (Sapolsky et al., 1984). La diminution de production de facteurs neurotrophiques tel BDNF contribuerait à la suractivation de l'axe HHS par l'entremise d'une réduction volumique et neuronale de l'hippocampe. De plus, cette suractivation de la réponse au stress augmente les niveaux de glucocorticoïdes dans l'organisme et contribue à la mort cellulaire hippocampique. L'hyperactivation de l'axe HHS devient plus commun avec l'âge, particulièrement dans la dépression gériatrique (Slotkin et al., 1998), et est observée dans la dépression majeure (Barden, 2004). Cette hyperactivation est réversible par l'administration chronique d'antidépresseurs (Holsboer-Trachsler et al., 1991). Également, le fait que les RG agissent par des cascades protéine G-adénylate cyclase-AMPC pour assurer les fonctions effectrices des signaux intracellulaires (Barden, 2004), pourrait causer des altérations de cette cascade dans l'hippocampe. Les

antidépresseurs seraient capables d'atténuer les effets dus au changement de ratio Gi/Gs en agissant directement ou indirectement. La cascade signalétique pourrait ainsi assurer les fonctions nécessaires au rétablissement des diverses déficiences cellulaires par la reprogrammation génique (augmentation de CREB, de BDNF, etc.) D'ailleurs, l'augmentation de la neurogénèse par l'administration d'antidépresseurs chez le rat déprimé corrèle avec les améliorations comportementales (Castrén, 2004). Cependant, le modèle animal de dépression bulbectomie olfactive ne présente pas l'élément stress comparativement à certains modèles comportementaux (soumission apprise, stress chronique modéré, etc.) (Kelly et al., 1997). Ainsi, l'hyperactivation de l'axe HHS ainsi que l'augmentation de la liaison des glucocorticoïdes aux RG de l'hippocampe seraient insignifiantes sans le facteur stress.

### **3) Régions affectées par la bulbectomie**

Tel que mentionné précédemment, le cortex préfrontal joue un rôle important dans le contrôle exécutif et l'inhibition comportementale (Morgane et al., 2005). Ainsi, le cortex préfrontal de patients déprimés exprime un flot sanguin et une activité physiologique générale diminués (Drevets, 1999) ainsi qu'une activité métabolique réduite (Rogers et al., 2004). D'autre part, des comportements frontaux comme le cannibalisme et le muricide (Yamaguchi et al., 1998) ont été observés par des rats bulbectomisés (Leonard et al., 1981). En effet, l'augmentation des niveaux de NA et de 5-HT dans le cortex frontal de rats avec une lésion du noyau du raphé par l'administration d'un antidépresseur potentiel (indeloxazine) a diminué les comportements de muricide (Yamaguchi et al., 1998). Ces comportements des rats

bulbectomisés pourraient alors s'expliquer par la déficience observée dans la voie signalitique de l'adénylate cyclase.

Parallèlement aux effets sur le cortex préfrontal, la réduction de l'activité de l'adénylate cyclase observée dans le cortex cingulaire concorde avec la diminution du flot sanguin et du métabolisme constatée dans cette structure chez des patients déprimés (Drevets, 1999). Également, la déficience des réponses exécutives et émotionnelles aux stimuli externes observées suite à une lésion du cortex cingulaire chez le rat, ainsi que chez le patient déprimé, pourrait être reliée à la réduction de l'activité de l'adénylate cyclase. En effet, l'hyperactivité dans le test *open field* (Klein et Brown, 1969; Van Riezen et Leonard, 1990) et les comportements agressifs des rat OBX sont atténués par les traitements antidépresseurs (Giardina et Radek, 1991; Noguchi et al., 1992; Redmond et al., 1994). L'administration d'antidépresseurs augmente les niveaux de  $G_{\alpha s}$ , le nombre de liaison  $G_{\alpha s}$ -adénylate cyclase, les niveaux de CREB et de son ARN messager et l'expression de BDNF dans le cerveau de rats (Chen et Rasenick, 1995; Nibuya et al., 1995; Nibuya et al., 1996; Dowlatshahi et al., 1999; Stewart et al., 2001). Le modèle animal bulbectomie olfactif semble bien représenter la corrélation entre les déficiences exécutives ainsi que comportementales et les altérations de la voie protéine G-AMPC-CREB constatée au niveau clinique (Sulser, 2002). D'ailleurs, nos résultats observés dans le cortex préfrontal et le cortex cingulaire de rats OBX (réduction de l'activité de l'adénylate cyclase stimulée par NaF et augmentation du rapport  $G_i/G_s$ ) contribuent au concept



de l'implication de l'altération des voies signalétiques de ces structures dans la pathophysiologie de la dépression.

Également, la réduction de production d'AMPc par l'adénylate cyclase observée dans les deux régions de l'hypothalamus (latéral et médian) pourrait être influencée par l'hyperactivation de l'axe HHS observée dans les désordres dépressifs (Slotkin et al., 1996; Barden, 2004; Sher, 2004). Même s'ils ne démontrent pas l'implication des glucocorticoïdes sur les voies signalétiques, Slotkin et al. (1996) ont émis l'hypothèse que leurs effets contribueraient aux dérèglements des fonctions cellulaires par leurs hypo- ou hyper-réactivité suite à l'administration d'antidépresseurs. De plus, l'hypothalamus contrôle les réponses physiologiques et immunologiques au stress provenant du système sensitif viscéral et du système olfactif (Afifi et al., 1998). Il régule également le métabolisme de l'énergie par l'alimentation et la digestion ainsi que les rythmes biologiques via le noyau suprachiasmatique, tous deux altérés dans la dépression. L'étude d'Edwards et al. (1993) établit l'importance de la liaison entre l'aire préoptique médiane de l'hypothalamus et les bulbes olfactifs dans les comportements violents entre les souris mâles et concorde avec l'augmentation de l'agressivité perçue dans les modèles animaux de dépression (Leonard et al., 1981; Cairncross et al., 1979). Également, différentes altérations de certains éléments assurant l'homéostasie de l'organisme, régulés principalement par l'hypothalamus, ont été constatées dans le modèle bulbectomie olfactif. La difficulté de maintenir leur température corporelle (Forster et al., 1980), l'augmentation du niveau de sodium sanguin (Kelly, 1991), la diminution du battement cardiaque au repos (Van Riezen et Leonard, 1990)

l'insomnie et l'augmentation du sommeil paradoxal (Webster et al., 1995) sont tous perçus chez les rats OBX et concordent avec plusieurs études cliniques (Coppen et Shaw, 1963; Bunney et Bunney, 2000; Holboer, 2000; Sher, 2004). Nos résultats concordent avec plusieurs études cliniques et animales illustrant le dérèglement de l'axe HHS et les désordres dépressifs comme étant étroitement liés. Ainsi, les altérations de la cascade protéine G-AMPC-CREB observées dans l'hypothalamus des rats OBX lors de notre étude supportent l'implication de cette structure dans la pathophysiologie de la dépression.

D'autres structures limbiques semblent également jouer un rôle dans l'induction des différentes altérations perçues dans la dépression. Une diminution volumique de l'hippocampe et des déficits mnésiques observée chez des patients déprimés (Campbell et al., 2004; Campbell et MacQueen, 2004) ainsi qu'une dénervation de cette structure suite à l'ablation des bulbes olfactifs (Kelly et al., 1997) semblent laisser peu de doute quant à son implication dans les désordres dépressifs. De plus, l'étude de Wallace et al. (2004) a montré que l'expression de CREB dans l'amygdale basolatérale influence le comportement dans le modèle animal de dépression soumission apprise. Aussi, le flot sanguin cérébral et le métabolisme de l'amygdale serait positivement corrélé avec la sévérité de la dépression (Drevets et al., 1992; 1995). Cependant, l'activité des structures limbiques (flot sanguin cérébral et métabolisme) ne représentent pas de façon directe le comportement de l'adénylate cyclase. L'augmentation de l'activité globale de l'amygdale pourrait augmenter la liaison de différents ligands à des récepteurs couplés à des protéines Gi, ce qui causerait une diminution de l'activité de l'adénylate cyclase (selon la densité de

Gi/Gs). Ainsi, l'activation des protéines G liées à un autre effecteur que l'adénylate cyclase (phospholipase C par exemple) pourrait avoir des conséquences sur certains seconds messagers indépendamment de l'AMPc. Donc, la présence d'un système inhibiteur de l'adénylate cyclase (Gi), hypothétiquement augmenté dans le modèle OBX de la dépression, empêche la déduction qu'une augmentation du métabolisme général de l'amygdale correspond à une augmentation de l'activité de cette enzyme. La mesure de la densité de l'AMPc dans une étude post-mortem de cerveau de patients récemment diagnostiqués de dépression serait un exemple de mesures cliniques valides de l'activité de l'adénylate cyclase dans l'amygdale. Une étude de ce genre, à condition d'être méthodologiquement rigoureuse (condition du décès, prise d'antidépresseurs, etc.), serait plus pertinente à comparer au modèle OBX de la dépression et ainsi pouvoir d'avantage valider, ou infirmer, ce modèle.

L'importance du noyau caudé dans l'intégration des structures limbiques et cognitives ainsi que son implication supposée dans la mémoire de «travail» en fait une structure potentiellement altérée dans la dépression (Levitt et al., 2002). Même si nos résultats n'étaient pas significatifs dans ces trois régions, l'activité de l'adénylate cyclase stimulée par NaF y a diminué alors que le rapport Gi/Gs a augmenté dans l'hippocampe, l'amygdale latérale et l'amygdale médiane de rats OBX. Toutefois, en accord avec notre étude-pilote, un effectif de six ou plus devrait être suffisant pour observer une différence significative. Or, comme nous n'avons pas retrouvé de différences, il est possible que la cinétique de changements dans ces régions ne soient pas les mêmes et qu'un décours temporel aurait influencé nos résultats (*Vide supra*).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude appuie donc l'hypothèse selon laquelle les protéines G jouent un rôle essentiel dans la pathophysiologie de la dépression induite par la bulbectomie. Les régions du cortex préfrontal, cingulaire et l'hypothalamus sont particulièrement affectées dans ce modèle.

Afin d'établir la relation entre la densité des protéines  $G_i$  et  $G_s$ , l'activité de l'adénylate cyclase, le facteur de transcription CREB et le facteur neurotrophique BDNF, d'autres études sont nécessaires. L'étude devrait mesurer au moins hebdomadairement ces éléments pendant au moins un mois suivant la bulbectomie pour ainsi caractériser l'évolution temporelle des marqueurs de transduction. Aussi, il serait intéressant de mesurer l'apoptose dans les quatre structures où nous avons observé des différences significatives. Finalement, nous devrions utiliser différents antidépresseurs dans ce modèle pour déterminer leurs effets dans le modèle de dépression bulbectomie olfactive aux niveaux biochimiques et comportementales.

## BIBLIOGRAPHIE

ADACHI, K., HAMER, J.E., 1998. « Divergent cAMP signaling pathways regulate growth and pathogenesis in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* », *Plant Cell*, volume 10, numéro 8, 1361-1374.

AFIFI, A.K., RONALD, A., BERGMAN, A. 1998. « Limbic System. In Functional Neuroanatomy. Text and Atlas », *McGraw-Hill editions*, Chap. 21, 421-444.

AFIFI, A.K., 2003. « The basal ganglia: a neural network with more than motor function », *Seminars in Pediatric Neurology*, volume 10, numéro 1, 3-10.

ALI, M.S., SAYESKI, P.P., DIRKSEN, L.B., HAYZER, D.J., MARRERO, M.B., BERNSTEIN, K.E., 1997. « Dependence on the motif YIPP for the physical association of Jak2 kinase with the intracellular carboxyl tail of the angiotensin II AT1 receptor », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 272, numéro 37, 23382-23388.

AMADIO, M., GOVONI, S., ALKON, D.L., PASCALE, A., 2004. « Emerging targets for the pharmacology of learning and memory », *Pharmacological Research*, volume 50, numéro 2, 111-122.

AMAT, J., BARATTA, M.V., PAUL, E., BLAND, S.T., WATKINS, L.R., MAIER, S.F., 2005. « Medial prefrontal cortex determines how stressor controllability affects behavior and dorsal raphe nucleus », *Nature Neuroscience*, volume 8, numéro 3, 365-371.

ANTONNY, B., SUKUMAR, M., BIGAY, J., CHABRE, M., HIGASHIJIMA, T., 1993. « The Mechanisme of Aluminium-independent G-protein Activation by

Fluoride and Magnesium », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 268, numéro 4, 2393-2402.

ATALLAH, H.E., FRANK, M.J., O'REILLY, R.C., 2004. « Hippocampus, cortex, and basal ganglia: Insights from computational models of complementary learning systems », *Neurobiology of Learning and Memory*, volume 82, numéro 3, 253-267.

AVISSAR, S., BARKI-HARRINGTON, L., NECHAMKIN, Y., ROITMAN, G., SCHREIBER, G., 1996. « Reduced  $\beta$ -Adrenergic Receptor-Coupled Gs Protein Function and Gs $\alpha$  Immunoreactivity in Mononuclear Leukocytes of Patients with Depression », *Biological Psychiatry*, volume 39, numéro 9, 755-760.

AVISSAR, S., NECHAMKIN, Y., ROITMAN, G., SCHREIBER, G., 1997. « Reduced G protein Functions and Immunoreactive Levels in Mononuclear Leukocytes of Patients with Depression », *The American Journal of Psychiatry*, volume 154, numéro 2, 211-217.

AVISSAR, S., SCHREIBER, G., 1992. « Interaction of Antibipolar and Antidepressant Treatments with Receptor-Coupled G proteins », *Pharmacopsychiatry*, volume 25, numéro 1, 44-50.

BALSCHUN, D., WOLFER, D.P., GASS, P., MANTAMADIOTIS, T., WELZL, H., SCHÜTZ, G., FREY, J., LIPP, H., 2003. « Does cAMP response element-binding protein have a pivotal role in hippocampal synaptic plasticity and hippocampus-dependent memory? », *The Journal of Neuroscience*, volume 23, numéro 15, 6304-6314.

BARDEN, N., 2004. « Implication of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the physiopathology of depression », *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, volume 2, numéro 3, 185-193.

BECHARA, A., DAMASIO, H., DAMASIO, A.R., 2003. « Role of the amygdala in decision-making. », *Annals of the New York Academy of Sciences*, volume 985, 356-369.

BERMAN, D.M., GILMAN, A.G., 1998. « Mammalian RGS Proteins: Barbarians at the Gate », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 273, numéro 3, 1269-1272.

BERRIDGE, C.W., DUNN, A.J., 1989. « Restraint-Stress-Induced Changes in Exploratory Behavior Appear to be Mediated by Norepinephrine-Stimulated Release of CRF », *The Journal of Neuroscience*, volume 9, numéro 10, 3513-3521.

BERTO, P., D'ILARIO, D., RUFFO, P., DI VIRGILIO, R., RIZZO, F., 2000. « Depression: Cost-of-illness Studies in the International Literature, a Review », *The Journal of Mental Health Policy and Economics*, volume 3, numéro 1, 3-10.

BISSETTE, G., 2001. « Effects of Sertraline on Regional Neuropeptide Concentrations in Olfactory Bulbectomized Rats », *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, volume 69, 269-281.

BIZOT, J.C., THIEBOT, M.H., LEBIHAN, C., SOUBRIE, P., SIMON, P., 1988. « Effects of Imipramine-like Drugs and Serotonin Uptake Blockers on Delay of Reward in Rats », *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, volume 246, 245-256.

BLIER, P., DE MONTIGNY, C., 1999. « Serotonin and Drug-Induced Therapeutic Responses in Major Depression, Obsessive-Compulsive and Panic Disorders », *Neuropsychopharmacology*, volume 21, numéro 2 Suppl., 91S-98S.

BLIER, P., PIÑEYRO, G., EL MANSARI, M., BERGERON, R., DE MONTIGNY, C., 1999. « Role of Somatodendritic 5-HT Autoreceptors in Modulating 5-HT

Neurotransmission », *Annals of the New York Academy of Sciences*, volume 861, 204-216.

BLIER, P., 2001. « Crosstalk Between the Norepinephrine and Serotonin Systems and its Role in the Antidepressant Response », *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, volume 26, Suppl: S3-S10.

BLIER, P., GOBBI, G., HADDJERI, N., SANTARELLI L., MATHEW, G., HEN, R., 2004. « Impact of Substance P Receptor Antagonism on the Serotonin and Norepinephrine Systems: Relevance to the Antidepressant/Anxiolytic Response », *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, volume 29, numéro 3, 208-218.

BOCKAERT, J., PIN, J.P., 1998. « Utiliser un récepteur couple aux protéines G pour communiquer. Un succès évolutif », *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Série III- Sciences de la Vie*, volume 321, numéro 7, 529-551.

BOCKAERT, J., PIN, J.P., 1999. « Molecular Tinkering of G protein-Coupled Receptors: An Evolutionary Success », *The EMBO Journal*, volume 18, numéro 7, 1723-1729.

BORASIO, P.G., CERVELLATI, F., PAVAN, B., PARESCHI, M.C., 2004. « "Low" Concentrations of Sodium Fluoride Inhibit Neurotransmitter Release from the Guinea-Pig Superior Cervical Ganglion », *Neuroscience Letters*, volume 364, numéro 2, 86-89.

BUNNEY, W.E., BUNNEY, B.G., 2000. « Molecular Clock Genes in Man and Lower Animals: Possible Implications for Circadian Abnormalities in Depression », *Neuropsychopharmacology*, volume 22, numéro 4, 335-345.



BUTLER, J., LEONARD, B.E., 1988. « The Platelet Serotonergic System in Depression and Following Sertraline Treatment », *International Clinical Psychopharmacology*, volume 3, numéro 4, 343-347.

BYRUM, C.E., AHEARN, E.P., KRISHNAN, K.R.R., 1999. « A Neuroanatomic Model for Depression », *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, volume 23, 175-193.

CAIRNCROSS, K.D., 1976. « Effect of Amitriptyline on Avoidance Learning in Rats Following Olfactory Bulb Ablation », *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, volume 3, numéro 6, 1063-1067.

CAIRNCROSS, K.D., WREN, A., COX, B., FOSTER, C., SCHNIEDEN, H., 1977. « Effects of Olfactory Bulbectomy and Domicile on Stress Induced Corticosterone Release in the Rat », *Physiology and Behavior*, volume 19, 405-417.

CAIRNCROSS, K.D., COX, B., FOSTER, C., WREN, A., 1979. « Olfactory projection systems, drugs and behavior. A review », *Psychoneuroendocrinology*, volume 4, 253-272.

CAMPBELL, S., MACQUEEN, G., 2004. « The Role of the Hippocampus in the Pathophysiology of Major Depression », *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, volume 29, numéro 6, 417-426.

CAMPBELL, S., MARRIOT, M., NAHMIAS, C., MACQUEEN, G., 2004. « Lower Hippocampal Volume in Patients Suffering from Depression: A Meta-Analysis », *The American Journal of Psychiatry*, volume 161, 598-607.

CASSANO, P., FAVA, M., 2002. « Depression and Public Health: An Overview », *Journal of Psychosomatic Research*, volume 53, numéro 4, 849-857.

CASTRÉN, E., 2004. « Neurotrophic Effects of Antidepressant Drugs », *CURRENT opinions in Pharmacology*, volume 4, 58-64.

CELADA, P., PUIG, M.V., CASANOVAS, J.M., GUILLAZO, G., ARTIGAS, F., 2001. « Control of dorsal raphe serotonergic neurons by the medial prefrontal cortex: involvement of serotonin-1A, GABA<sub>A</sub>, and glutamate receptors », *The Journal of Neuroscience*, volume 21, numéro 24, 9917-9929.

CHARNEY, D.S., MANJI, H.K., 2004. « Life Stress, Genes, and Depression: Multiple Pathways Lead to Increased Risk and New Opportunities for Intervention », *Science's STKE*, volume 225, re5. Review.

CHEN, A.C., RASENICK, M.M., 1995. « Chronic antidepressant treatment facilitates G protein activation of adenylyl cyclase without altering G protein content », *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, volume 275, 509-517.

CHEN, A.C., SHIRAYAMA, Y., SHIN, K., NEVE, R.L., DUMAN, R.S., 2001. « Expression of the cAMP Response Element Binding Protein (CREB) in Hippocampus Produces an Antidepressant Effect », *Biological Psychiatry*, volume 49, numéro 9, 753-762.

CLAPHAM, D.E., NEER, E.J., 1997. « G Protein Beta Gamma Subunits », *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, volume 37, 167-203.

COLEMAN, D.E., SPRANG, S.R., 1996. « How G Protein Works: A Continuing Story », *Trends in Biochemical Science*, volume 21, numéro 2, 41-44.

COLLINS, G.G.S., 1984. « Amino Acid Transmitter Candidates in Various Regions of the Olfactory Cortex Following Olfactory Bulbectomy », *Brain Research*, volume 296, 145-147.

COOPER, J.R., BLOOM, F.E., ROTH, R.H., 1996. *The Biochemical Basis of Neuropsychopharmacology*, 7ième edition. Oxford University Press, 518 pages.

COPPEN, A., SHAW, D.M., 1963. « Mineral Metabolism in Melancholia », *British Medical Journal*, volume 5370, 1439-1444.

DALLEY, J.W., CARDINAL, R.N., ROBBINS, T.W., 2004. « Prefrontal Executive and Cognitive Functions in Rodents: Neural and Neurochemical Substrates », *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, volume 28, 771-784.

DAVIS, M., WHALEN, P.J., 2001. « The Amygdala: Vigilance and Emotion », *Molecular Psychiatry*, volume 6, numéro 1, 13-34.

DENNIS, T., BEAUCHEMIN, V., LAVOIE, N., 1993. « Differential Effects of Olfactory Bulbectomy on GABAA and GABAB Receptors in the Rat Brain », *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, volume 46, numéro 1, 77-88.

DESSAUER, C.W., TESMER, J.J.G., SPRANG, S.R., GILMAN, A.G., 1998. « Identification of Gi $\alpha$  Binding Site on Type V Adenylyl Cyclase », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 273, numéro 40, 25831-25839.

DEVINSKY, O., MORREL, M.J., VOGT, B.A., 1995. « Contributions of anterior cingulate to behaviour », *Brain*, volume 118, partie 1, 279-306.

DOWLATSHAHI, D., MACQUEEN, G.M., WANG, J., RELACH, J.S., YOUNG, L.T., 1999. « G Protein-Coupled Cyclic AMP Signaling in Postmortem Brain of Subjects with Mood Disorders: Effects of Diagnosis, Suicide, and Treatment at the Time of Death », *Journal of Neurochemistry*, volume 73, numéro 3, 1121-1126.

DREVETS, W.C., VIDEEN, T.O., PRICE, J.L., PRESKORN, S.H., CARMICHAEL, S.T., RAICHLE, M.E., 1992. « A functional Anatomical Study of Unipolar Depression », *The Journal of Neuroscience*, volume 12, numéro 9, 3628-3641.

DREVETS, W.C., BURTON, H., VIDEEN, T.O., SNYDER, A.Z., SIMPSON, J.R.Jr., RAICHLE, M.E., 1995. « Blood Flow Changes in Human Somatosensory Cortex During Anticipated Stimulation », *Nature*, volume 373, numéro 6511, 249-252.

DREVETS, W.C., 1999. « Prefrontal Cortical-Amygdalar Metabolism in Major Depression », *Annals of the New York Academy of Sciences*, volume 877, 614-637.

DREVETS, W.C., 2001. « Neuroimaging and Neuropathological Studies of Depression: Implication for the Cognitive-Emotional Features or Mood Disorders », *Urrtent Opinions in Neurobiology*, volume 11, numéro 2, 240-249.

DSM-IV <sup>TM</sup> . AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994: « Diagnostic and Statistical Manuel of Mental Disorders ». Fourth Edition.

DUMAN, R.S., HENINGER, G.R., NESTLER, E.J., 1997. « A Molecular and Cellular Theory of Depression », *Archives of General Psychiatry*, volume 54, numéro 7, 597-606.

DUMAN, R.S., 1998. « Novel Therapeutic Approaches Beyond the Serotonin Receptor », *Biological Psychiatry*, volume 44, numéro 5, 324-335.

DUMAN, R.S., MALBERG, J., NAKAGAWA, S., D'SA, C., 2000. « Neuronal Plasticity and Survival in Mood Disorders », *Biological Psychiatry*, volume 48, numéro 8, 732-739.

DUMAN, R.S., NAKAGAWA, S., MALBERG, J., 2001. « Regulation of Adult Neurogenesis by Antidepressant Treatment », *Neuropsychopharmacology*, volume 25, numéro 6, 836-844.

DUMAN, R.S., 2002. « Pathophysiology of Depression: The Concept of Synaptic Plasticity », *European Psychiatry*, volume 17, suppl. 3, 306-310.

DWIVEDI, Y., AGRAWAL, A.K., RIZAVI, H.S., PANDEY, G.N., 2003. « Antidepressants Reduce Phosphoinositide-Specific Phospholipase C (PI-PLC) Activity and the mRNA and Protein Expression of Selective PLC Beta 1 Isozyme in Rat Brain », *Neuropharmacology*, volume 43, numéro 8, 1269-1279.

EARLEY, B., GLENNON, M., LALLY, M., LEONARD, B.E., JUNIEN, J.L., 1994. « Autoradiographic Distribution of Cholinergic Muscarinic Receptors and Serotonin (2) Receptors in Olfactory Bulbectomized (OB) Rats After Chronic Treatment with Mianserin and Desipramine », *Psychopharmacology*, volume 9, 397-407.

EDWARDS, D.A., NAHAI, F.R., WRIGHT, P., 1993. « Pathways Linking the Olfactory Bulbs with the Medial Preoptic Anterior Hypothalamus are Important for Intermale Aggression in Mice », *Physiology & Behavior*, volume 53, numéro 3, 611-615.

ELHWUEGI, A.S., 2004. « Central Monoamines and Their Role in Major Depression », *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, volume 28, numéro 3, 435-451.

FLAMENT-DURAND, J., 1980. « The Hypothalamus: Anatomy and Functions », *Acta Psychiatry Belgium*, volume 80, numéro 4, 364-375.

FORSTER, C., PARKES, J., COX, B., 1980. « Effects of Olfactory Bulbectomy and Peripherally-Induced Anosmia on Thermoregulation in the Rat: Susceptibility to

Antidepressant Type Drugs », *Journal of Pharmacy and pharmacology*, volume 32, numéro 9, 630-634.

FUCHS, E., CZÉH, B., KOLE, M.H.P., MICHAELIS, T., LUCASSEN, P.J., 2004. « Alterations of Neuroplasticity in Depression: the Hippocampus and Beyond », *European Neuropsychopharmacology*, volume 14, Suppl 5, S481-S490.

GETHER, U., KOBILKA, B.K., 1998. « G Protein-Coupled Receptors », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 273, numéro 29, 17979-17982.

GETHER, U., 2000. « Uncovering Molecular Mechanisms Involved in Activation of G protein-Coupled Receptors », *Endocrine Reviews*, volume 21, numéro 1, 90-113.

GETHER, U., ASMAR, F., MEINILD, A.K., RASMUSSEN, S.G., 2002. « Structural Basis for Activation of G-Protein-Coupled Receptors », *Pharmacology & Toxicology*, volume 91, numéro 6, 304-312.

GIARDINA, W.J., RADEK, R.J., 1991. « Effects of Imipramine on the Nocturnal Behavior of Bilateral Olfactory Bulbectomized Rats », *Biological Psychiatry*, volume 29, numéro 12, 1200-1208.

GOULD, T.D., MANJI, H.K., 2002. « Signaling Networks in the Pathophysiology and Treatment of Mood Disorders », *Journal of Psychosomatic Research*, volume 53, numéro 2, 687-697.

GUZOWSKI, J.F., KNIERIM, J.J., MOSER, E.I., 2004. « Ensemble Dynamics of Hippocampal Regions CA3 and CA1 », *Neuron*, volume 44, 581-584.

HALL, R.D., MACRIDES, F., 1983. « Olfactory Bulbectomy Impairs the Rat's Radial-Maze Behavior », *Physiology & Behavior*, volume 30, numéro 5, 797-803.

HALL, R.D., WISE, M.G., 1995. « The Clinical and Financial Burden of Mood Disorders. Cost and Outcome », *Psychosomatics*, volume 36, numéro 2, S11-S18.

HAMM, H.E., 1998. « The Many Faces of G Protein Signaling », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 273, numéro 2, 669-672.

HARVEY, J.A., SCHOLFIELD, C.N., GRAHM, L.T.JR., APRISON, M.H., 1975. « Putative Transmitters in Denervated Olfactory Complex », *Journal of Neurochemistry*, volume 24, numéro 3, 445-449.

HASHIMOTO, K., SHIMIZU, E., IYO, M., 2004. « Critical Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Mood Disorders », *Brain Research Reviews*, volume 45, numéro 2, 104-114.

HERRERO, M.T., BARCIA, C., NAVARRO, J.M., 2002. « Functional Anatomy of Thalamus and Basal Ganglia », *Child's Nervous System*, volume 18, numéro 8, 386-404.

HINES, L.M., TABAKOFF, B., WHO/ISBRA, 2005. « Platelet Adenylyl Cyclase Activity: A Biological Marker for Major Depression and Recent Drug Use », *Biological Psychiatry*, In Press.

HOFFMAN, P.L., GLANZ, J., TABAKOFF, B., WHO/ISBRA, 2002. « Platelet Adenylyl Cyclase Activity as a State or Trait Marker in Alcohol Dependence: Results of the WHO/ISBRA Study on State and Trait Markers of Alcohol Use and Dependence », *Alcoholism: Clinical and Experimental research*, volume 26, numéro 7, 1078-87.

HOLMES, P.V., DAVIS, R.C., MASINI, C.V., PRIMEAUX, S.D., 1998. « Effects of Olfactory Bulbectomy on Neuropeptide Gene Expression in the Rat Olfactory/Limbic System », *Neuroscience*, volume 86, numéro 2, 587-596.

HOLSBOER, F., 2000. « The Corticosteroid Receptor Hypothesis of Depression », *Neuropsychopharmacology*, volume 23, numéro 5, 477-501.

HOLSBOER-TRACHSLER, E., 2000. « Repeated Administration of the Combined Dexamethasone-Human Corticotropin Releasing Hormone Stimulation Test During Treatment of Depression », *Psychiatry Research*, volume 38, numéro 2, 163-171.

HOUSLAY, M.D., KOLCH, W., 2000. « Cell-Type Specific Integration of Cross-Talk Between Extracellular Signal-Regulated Kinase and camp Signaling », *Molecular Pharmacology*, volume 58, numéro 4, 659-668.

HURLEY, J.H., 1999. « Structure, Mechanism, and Regulation of Mammalian Adenylyl Cyclase », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 274, numéro 12, 7599-7602.

HURLEY, L.M., DEVILBISS, D.M., WATERHOUSE, B.D., 2004. « A Matter of Focus: Monoaminergic Modulation of Stimulus Coding in Mammalian Sensory Networks », *Current Opinions in Neurobiology*, volume 14, numéro 4, 488-495.

ITOH, T., ABE, K., TOKUMURA, M., HORIUCHI, M., INOUE, O., IBII, N., 2003. « Different Regulation of Adenylyl Cyclase and Rolipram-Sensitive Phosphodiesterase Activity on the Frontal Cortex and Hippocampus in Learned Helplessness Rats », *Brain Research*, volume 991, numéro 1-2, 142-149.

JANCSAR, S.M., LEONARD, B.E., 1984. « Changes in Neurotransmitter Metabolism Following Olfactory Bulbectomy in the Rat », *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, volume 8, numéro 2, 263-269.

JESBERGER, J.A., RICHARDSON, J.S., 1985. « Animal Models of Depression: Parallels and Correlates to Severe Depression in Humans », *Biological Psychiatry*, volume 20, numéro 7, 764-784.



JESBERGER, J.A., RICHARDSON, J.S., 1988. « Brain output dysregulation induced by olfactory bulbectomy: an approximation in the rat of major depressive disorder in humans? », *International Journal of Developmental Neuroscience*, volume 38, numéro 3-4, 241-265.

JI, T.H., GROSSMANN, M., JI, I., 1998. « G protein-Coupled Receptors. I. Diversity of Receptor-Ligand Interactions », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 273, numéro 28, 17299-17302.

JOLY, D., SANGER, D.J., 1986. « The effects of fluoxetine and zimeldine on the behavior of olfactory bulbectomized rats », *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, volume 24, numéro 2, 199-204.

KARLSSON, R., ZHENG, J., XUONG, N., TAYLOR, S.S., SOWADSKI, J.M., 1993. « Structure of the mammalian catalytic subunit of cAMP-dependent protein kinase and an inhibitor peptide displays an open conformation », *Acta Crystallographia. Section D, Biological Crystallography*, volume 49, partie 4, 381-388.

KASPER, S.F., RESINGER, E., 2001. « Efficacy of noradrenergic-selective agents in the treatment of neuropsychiatric diseases », *CNS Spectrums*, volume 6, numéro 8, 710-713.

KELLY, J.P., 1991. « The Olfactory Bulbectomized Rat as a Model of Depression: Biochemical, Behavioural and Pharmacological Correlates », Thèse Doctorale (Ph.D.), Université National d'Irlande.

KELLY, J.P., LEONARD, B.E., 1993. « Dexamethasone Suppression of Corticosterone Secretion in Olfactory Bulbectomized Rats », *Neuropsychopharmacology*, volume 9, numéro 3, 137S-138S.

KELLY, J.P., LEONARD, B.E., 1995. « The Contribution of Preclinical Drug Evaluation in Predicting the Clinical Profile of the Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Paroxetine », *Journal of Serotonin Research*, volume 1, 27-46.

KELLY, J.P., LEONARD, B.E., 1996. « Effects of Chronic Desipramine on Waiting Behaviour for a Food Reward in Olfactory Bulbectomized Rats », *Journal of Psychopharmacology*, volume 10, 153-156.

KELLY, J.P., WRYNN, A.S., LEONARD, B.E., 1997. « The Olfactory Bulbectomized Rat as a Model of Depression: an update », *Pharmacology & Therapeutics*, volume 74, numéro 3, 299-316.

KEMP, A., MANAHAN-VAUGHAN, D., 2004. « Hippocampal Long-Term Depression and Long-Term Potentiation Encode Different Aspects of Novelty Acquisition », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, volume 101, numéro 21, 8192-8197.

KESSLER, R.C., BERGLUND, P., DEMLER, O., JIN, R., KORETZ, D., MERIKANGAS, K.R., RUSH, A.J., WALTERS, E.E., WANG, P.S., 2003. « The Epidemiology of Major Depressive Disorders », *JAMA*, volume 23, 3095-3105.

KING, M.G., CAIRNCROSS, K.D., 1974. « Effects of Olfactory Bulb Section on Brain Noradrenaline, Corticosterone and Conditioning in the Rat », *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, volume 2, numéro 3, 347-353.

KLEIN, D., BROWN, T.S., 1969. « Exploratory Behavior and Spontaneous Alternation in Blind and Anosmic Rats », *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, volume 68, numéro 1, 107-110.

KLEUSS, C., RAW, A.S., LEE, E., SPRANG, S.R., GILMAN, A.G., 1994. « Mechanism of GTP Hydrolysis by G-Protein Alpha Subunits », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, volume 91, numéro 21, 9828-9831.

KOCH, J.M., KELL, S., HINZE-SELCH, D., ALDENHOFF, J.B., 2002. « Changes in CREB-Phosphorylation During recovery from Major Depression », *Journal of Psychiatric Research*, volume 36, 369-375.

KOHOUT, T.A., LEFKOWITZ, R.J., 2003. « Regulation of G Protein-Coupled Receptor Kinases and Arrestins During Receptor Desensitization », *Molecular Pharmacology*, volume 63, numéro 1, 9-18.

KRAMER, M.S., CUTLER, N., FEIGHNER, J., SHRIVASTAVA, R., CARMAN, J., SRAMEK, J.J., REINES, S.A., LIU, G., ET AL., 1998. « Distinct Mechanism for Antidepressant Activity by Blockade of Central Substance P Receptors », *Science*, volume 281, numéro 5383, 1640-1645.

KRUK, M.R., WESTPHAL, K.G.C., VAN ERP, A.M.M., VAN ASPEREN, J., CAVE, B.J., SLATER, E., DE KRONING, J., HALLER, J., 1998. « The Hypothalamus: Cross-roads of Endocrine and Behavioral Regulation in Grooming and Aggression », *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, volume 23, 163-177.

KRUPINSKI, J., COUSSEN, F., BAKALYAR, H.A., TANG, W.J., FEINSTEIN, P.G., ORTH, K., SLAUGHTER, C., REED, R.R., GILMAN, A.G., 1989. « Adenylyl Cyclase Amino Acid Sequence: Possible Channel- or Transporter-Like Structure », *Science*, volume 244, numéro 4912, 1558-1564.

KRUPINSKI, J., CALI, J.J., 1998. « Molecular Diversity of the Adenylyl Cyclases », *Advances in Second Messenger Phosphoprotein Research*, volume 32, 53-79.

LAI, I., HONG, C., TSAI, S., 2003. « Expression of camp Response Element-Bindang Protein in Major Depression Before and After Antidepressant Treatment », *Neuropsychobiology*, volume 48, 182-185.

LEONARD, B.E., TUITTE, M., 1981. « Anatomical, Physiological, and Behavioral Aspects of Olfactory Bulbectomy in the Rat », *International Revue of Neurobiology*, volume 22, 251-286.

LEVITT, P., MORE, R.Y., 1978. « Developmental Organization of Raphe Serotonin Neuron Groups in the Rat », *Anatomy and Embryology*, volume 154, numéro 3, 241-251.

LEVITT, J.J., MCCARLEY, R.W., DICKEY, C.C., VOGLMAIER, M.A., NIZNIKIEWITCZ, M.A., SEIDMAN, L.J., HIRAYASU, Y., CISZEWSKI, A.A., KIKINIS, R., JOLESZ, F.A., SHENTON, M.E., 2002. « MRI Study of Caudate Nucleus Volume and It's Cognitive Correlates in Neuroleptic-Naive Patients with Schizotypal personality Disorder », *American Journal of Psychiatry*, volume 159, numéro 7, 1190-1197.

LEFKOWITZ, R.J., 1998. « G-protein-Coupled Receptors », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 273, numéro 30, 18677-18680.

LOWTHER, S., CROMPTON, M.R., KATONA, C.L., HORTON, R.W., 1996. « GTP Gamma S and Forskolin-Stimulated Adenylyl Cyclase Activity in Post-Mortem Brain from Depressed Suicides and Controls », *Molecular Psychiatry*, volume 1, numéro 6, 470-477.

MAIER, S.F., 1984. « Learned Helplessness and Animal Models of Depression », *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, volume 8, numéro 3, 435-446.

MANIER, D.H., SHELTON, R.C., SULSER, F., 2002. « Noradrenergic Antidepressants: Does Chronic Treatment Increase or decrease Nuclear CREB-P? », *Journal of Neural Transmission*, volume 109, 91-99.

MANN, J.J., HALPER, J.P., WILNER, P.J., SWEENEY, J.A., MIECZKOWSKI, T.A., CHEN, J., STOKES, P.E., BROWN, R.P., 1997. « Subsensitivity of Adenylyl Cyclase-Coupled Receptors on Mononuclear Leucocytes from drug-Free Inpatients with Major Depressive Episodes », *Biological Psychiatry*, volume 42, 859-870.

MARCHILHAC, A., MAUREL, D., ANGLADE, G., IXART, G., MEKAOUCHE, M., HERY, F., SIAUD, P., 1997. « Effects of Bilateral Olfactory Bulbectomy on Circadian Rhythms of ACTH, Corticosterone, Motor Activity and Body Temperature in Male Rats », *Archives of Physiology and Biochemistry*, volume 105, numéro 6, 552-559.

MARCHILHAC, A., FAUDON, M., ANGLADE, G., HERY, F., SIAUD, P., 1999. « An Investigation of Serotonin Involvement in the Regulation of ACTH and Corticosterone in the Olfactory Bulbectomized Rat », *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, volume 63, numéro 4, 599-605.

MAYBERG, H.S., LIOTTI, M., BRANNAN, S.K., MCGINNIS, S., MAHURIN, R.K., JERABEK, P.A., SILVA, J.A., TEKELL, J.L., MARTIN, C.C., LANCASTER, J.L., FOX, P.T., 1999. « Reciprocal Limbic-Cortical Function and Negative Mood Converging PET Findings in Depression and Normal Sadness », *American Journal of Psychiatry*, volume 156, 675-682.

MAYFORD, M., KANDEL, E.R., 1999. « Genetic Approaches to Memory Storage » *Trends in Genetics*, volume 15, numéro 11, 463-470.

MAYR, B., MONTMIGNY, M., 2001. « Transcriptional Regulation by the Phosphorylation-Dependent Factor CREB », *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, volume 2, numéro 8, 599-609.

MCDONALD, A.J., 1998. « Cortical Pathways to the Mammalian Amygdala », *Progress in Neurobiology*, volume 55, 257-332.

MEGUID, M.M., GLEASON, J.R., YANG, Z.J., 1993. « Olfactory Bulbectomy in Rats Modulates Feeding Pattern but not Total Food Intake », *Physiology & Behavior*, volume 54, numéro 3, 471-475.

MEGUID, M.M., KOSETTI, M., YANG, Z., GLEASON, J.R., LAVIANO, A., 1997. « Acute Adaptive Changes in Food Intake Pattern Following Olfactory Ablation in Rats », *NeuroReport*, volume 8, 1439-1444.

MENKES, D.B., KEHNE, J.H., GALLAGER, D.W., AGHAJANIAN, G.K., DAVIS, M., 1983. « Functional Supersensitivity of CNS Alpha 1-Adrenoceptors Following Chronic Antidepressant Treatment », *Life Sciences*, volume 33, numéro 2, 181-188.

MENNINGER, J.A., TABAKOFF, B., 1997. « Forskolin-Stimulated Platelet Adenylate Cyclase Activity is Lower in Persons with Major Depression », *Biological Psychiatry*, volume 42, 30-38.

MINAKAMIR, R., JINNAI, N., SUGIYAMA, H., 1997. « Phosphorylation and Calmodulin Binding of the Metabotropic Glutamate receptor Subtype 5 (mGluR5) Are Antagonistic in Vitro », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 272, numéro 32, 20291-20298.

MORGANE, P.J., GALLER, J.R., MOKLER, D.J., 2005. « A Review of Systems and Networks of the Limbic Forebrain/Limbic Midbrain », *Progress in Neurobiology*, volume 75, 143-160.

MOONEY, J.J., SAMSON, J.A., MCHALE, N.L., COLODZIN, R., ALPERT, J., KOUTSOS, M., SCHILDKRAUT, J.J., 1998. « Signal Transduction by Platelet

Adenylate Cyclase: Alterations in Depressed Patients May Reflect Impairment in the Coordinated Integration of Cellular Signals (Coincidence Detection) », *Biological Psychiatry*, volume 43, numéro 8, 574-583.

MORRIS, M. (1981). « Spatial navigation does not require the presence of local cues » *Learning and Motivation*, volume 12, 230-249.

MURRAY, C.J., LOPEZ, A.D., 1997. « Alternative Projections of Mortality and Disability by Cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study », *Lancet*, volume 349, numéro 9064, 1498-1504.

NELSON, J.C., PORTERA, L., LEON, A.C., 2005. « Are There Differences in the Symptoms that Respond to a Selective Serotonin or Norepinephrine Reuptake Inhibitor? », *Biological Psychiatry*, volume 57, 1535-1542.

NEMEROFF, C.B., OWENS, M.J., BISSETTE, G., ANDORN, A.C., STANLEY, M., 1988. « Reduced Corticotropin Releasing Factor Binding Sites in the Frontal Cortex of Suicide Victims », *Archives of General Psychiatry*, volume 45, numéro 6, 577-579.

NESTLER, E.J., TERWILLIGER, R.Z., DUMAN, R.S., 1989. « Chronic Antidepressant Administration Alters the Subcellular Distribution of Cyclic AMP-Dependent Protein Kinase in Rat Frontal Cortex », *Journal of Neurochemistry*, volume 53, numéro 5, 1644-1647.

NESTLER, E.J., BARROT, M., DILEONE, R.J., EISCH, A.J., GOLD, S.J., MONTEGGIA, L.M., 2002. « Neurobiology of Depression », *Neuron*, volume 34, 13-25.

NETTLE, D., 2004. « Evolutionary Origins of Depression: A Review and Reformulation », *Journal of Affective Disorders*, volume 81, 91-102.

NEWMAN, M.E., LERER, B., LICHTENBERG, P., SHAPIRA, B., 1992 « Platelet Adenylate Cyclase Activity in Depression and After Clomipramine and Lithium Treatment : Relation to Serotonergic Function », *Psychopharmacology*, volume 109, 231-234.

NGUYEN, P.V., WOO, N.H., 2003. « Regulation of hippocampal Synaptic Plasticity by Cyclic AMP-Dependent Protein Kinases », *Progress in Neurobiology*, volume 71, 401-437.

NIBUYA, M., MORINOBU, S., DUMAN, R.S., 1995. « Regulation of BDNF and trkB mRNA in Rat Brain by Chronic Electroconvulsive Seizure and Antidepressant Drug Treatments », *Journal of Neuroscience*, volume 15, numéro 11, 7539-7547.

NIBUYA, M., NESTLER, E.J., DUMAN, R.S., 1996. « Chronic Antidepressant Administration Increases the Expression of cAMP Response Element Binding Protein (CREB) in Rat Hippocampus », *Journal of Neuroscience*, volume 16, numéro 7, 2365-2372.

NOGUCHI, S., Y., INUKAI, T., KUNO, T., TANAKA, C., 1992. « The Suppression of Olfactory Bulbectomy-Induced Muricide by Antidepressants and Antihistamines via Histamine H1 Receptor Blocking », *Physiology & Behavior*, volume 51, numéro 6, 1123-1127.

OPRIS, I., BRUCE, C.J., 2005. « Neural Circuitry of Judgment and Decision Mechanisms », *Brain Research Reviews*, volume 48, numéro 3, 509-526.

ORMEL, J., OLDEHINKEL, A.J., VOLLEBERG, W., 2004. « Vulnerability Before, During, and After a Major depressive Episode: A 3-Wave Population-Based Study », *Archives of General Psychiatry*, volume 61, numéro 10, 990-996.



O'SULLIVAN, C., 2004. « The Psychosocial Determinants of Depression: A Lifespan Perspective », *Journal of Nervous and Mental Disease*, volume 192, numéro 9, 585-594.

PAN, W., MCNAUGHTON, N., 2004. « The Supramammillary Area: It's Organisation, Function and Relationship to the Hippocampus », *Progress in Neurobiology*, volume 74, 127-166.

PIERONI, J.P., HARRY, A., CHEN, J., JACOBOWITZ, O., MAGNUSSON, R.P., IYENGAR, R., 1995. « Distinct Characteristics of the Basal Activities of Adenylyl Cyclases 2 and 6 », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 270, numéro 36, 21368-21373.

PIÑEYRO, G., BLIER, P., 1999. « Autoregulation of Serotonin Neurons: Role in Antidepressant Drug Action », *Pharmacological Reviews*, volume 51, numéro 3, 534-591.

PRIMEAUX, S.D., HOLMES, P.V., 1999. « Role of Aversively Motivated Behavior in the Olfactory Bulbectomy Syndrome », *Physiology & Behavior*, volume 67, numéro 1, 41-47.

PROSSER, R.A., MILLER, J.D., HELLER, H.C., 1990. « A Serotonin Agonist Phase-Shifts the Circadian Clock in the Suprachiasmatic Nuclei in Vitro », *Brain Research*, volume 534, numéro 1-2, 336-339.

REMOND, A.M., KELLY, J.P., LEONARD, B.E. 1994. « Effect of Paroxetine and Fluvoxamine on Behavioural Changes in a Number of Paradigms in the Olfactory Bulbectomized Rat Model of Depression. » *Journal of Serotonin Research*, volume 1: 199-205.

REMOND, A.M., KELLY, J.P., LEONARD, B.E. 1997. « Behavioural and Neurochemical Effects of Dizocilpine in the Olfactory Bulbectomized Rat Model of

Depression », *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, volume 58, numéro 2, 355-359.

REIACH, J.S., LI, P.P., WARSH, J.J., KISH, S.J., YOUNG, L.T., 1999. « Reduced Adenylyl Cyclase Immunolabeling and Activity in Postmortem Temporal Cortex of Depressed Suicide Victims », *Journal of Affective Disorders*, volume 56, numéro 2-3, 141-151.

RICHARDSON, J.S., TIONG, A.H., 1999. « Amygdaloid and Hippocampal Beta-Adrenoceptors in the Olfactory Bulbectomy Syndrome: Effects of Desipramine », *Annals of the New York Academy of Sciences*, volume 877, 764-768.

RICH, T.C., FAGAN, K.A., TSE, T.E., SCHAACK, J., COOPER, D.M., KARPEN, J.W., 2001. « A Uniform Extracellular Stimulus Triggers Distinct cAMP Signals in Different Compartments of a Simple Cell », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, volume 98, numéro 23, 13049-13054.

ROBICHAUD, M., BEAUCHEMIN, V., LAVOIE, N., DENNIS, T., DEBONNEL, G., 2001. « Effects of Bilateral Olfactory Bulbectomy on N-methyl-D-aspartate Receptor Function: Autoradiographic and Behavioral Studies in Rat », *Synapse*, volume 42, 95-103.

ROGERS, M.A., KASAI, K., KOJI, M., FUKUDA, R., IWANAMI, A., NAKAGOME, K., FUKUDA, M., KATO, N., 2004. « Executive and Prefrontal Dysfunction in Unipolar Depression: A Review of Neuropsychological and Imaging Evidence », *Neuroscience Research*, volume 50, 1-11.

SACHAR, E.J., HELLAMN, L., ROFFWARG, H.P., HALPERN, F.S., FUKUSHIMA, D.K., GALLAGHER, T.F., « Disrupted 24-hour Patterns of Cortisol Secretion in Psychotic Depression », *Archives of General Psychiatry*, volume 28, numéro 1, 19-24.

SALOMON, Y., LONDOS, C., RODBELL, M., 1974. « A Highly Sensitive Adenylate Cyclase Assay », *Annals of Biochemistry*, volume 58, numéro 2, 541-548.

SAPOLSKY, R.M., KREY, L.C., MCEWEN, B.S., 1984. « Glucocorticoid-Sensitive Hippocampal Neurons are Involved in Terminating the Adrenocortical Stress Response », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, volume 81, numéro 19, 6174-6177.

SCHWARTZ, J.H., 2001. « The Many Dimensions of cAMP Signaling », *PNAS*, volume 98, numéro 24, 13482-13484.

SELIGMAN, M.E., 1972. « Learned helplessness », *Annual Review of Medicine*, volume 23, 407-412.

SCHULMAN, H., 1995. « Protein Phosphorylation in Neuronal Plasticity and Gene Expression », *Current Opinions in Neurobiology*, volume 5, numéro 3, 375-381.

SCHOLFIELD, C.N., MORONI, F., CORRADETTI, R., PEPEU, G., 1983. « Levels and Synthesis of Glutamate and Aspartate in the Olfactory Cortex Following Bulbectomy », *Journal of Neurochemistry*, volume 41, numéro 1, 135-138.

SHELINE, Y.I., MITTLER, B.L., MINTUN, M.A., 2002. « The Hippocampus and Depression », *European Psychiatry*, volume 17, Suppl 3, 300-305.

SHER, L., 2004. « Daily Hassles, Cortisol, and the Pathogenesis of Depression », *Medical Hypotheses*, volume 62, numéro 2, 198-202.

SHIOIRI, T., TAKAHASHI, K., YAMADA, N., TAKAHASHI, S., 1991. « Motor Activity Correlates Negatively with Free-Running Period, While Positively with Serotonin Contents in SCN in Free-Running Rats », *Physiology and Behavior*, volume 49, numéro 4, 779-786.

SHIRAYAMA, Y., MITSUSHIO, H., TAKASHIMA, M., ICHIKAWA, H., TAKAHASHI, K., 1996. « Reduction of Substance P after Chronic Antidepressants Treatment in the Striatum, Substantia Nigra and Amygdala of the Rat », *Brain Research*, volume 739, numéro 1-2, 70-78.

SHIRAYAMA, Y., HASHIMOTO, K., HIGUCHI, T., MINABE, Y., 2001. « Subchronic Treatment with Methamphetamine and Phencyclidine Differentially Alters the Adenosine A1 and A2A Receptors in the Prefrontal Cortex, Hippocampus, and Striatum of the Rat », *Neurochemical Research*, volume 26, numéro 4, 363-368.

SCHUMAKE, J., GONZALEZ-LIMA, F., 2003. « Brain Systems Underlying Susceptibility to Helplessness and Depression », *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, volume 2, numéro 3, 198-221.

SILVA, A.J., KOGAN, J.H., FRANKLAND, P.W., KIDA, S., 1998. « CREB and memory », *Annual Review of Neuroscience*, volume 21, 127-148.

SLOTKIN, T.A., THAI, L., MCCOOK, E.C., SALEH, J.L., ZHANG, J., SEIDLER, F.J., 1996. « Aging and Glucocorticoids: Effects on Cell Signaling Mediated Through Adenylyl Cyclase », *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, volume 279, numéro 2, 478-491.

SLOTKIN, T.A., ZHANG, J., MCCOOK, E.C., SEIDLER, F.J., 1998. « Glucocorticoid-Targeting of the Adenylyl Cyclase Signaling Pathway in the Cerebellum of Young vs. Aged Rats », *Brain Research*, volume 800, numéro 2, 236-244.

SLOTKIN, T.A., MILLER, D.B., FUMAGALLI, F., MCCOOK, E.C., ZHANG, J., BISSETTE, G., SEIDLER, F.J., 1999. « Modeling Geriatric Depression in Animals: Biochemical and Behavioral Effects of Olfactory Bulbectomy in Young Versus Aged

Rats », *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, volume 289, numéro 1, 334-345.

SONG, C., LEONARD, B.E., 2005. « The Olfactory Bulbectomised Rat as a Model of Depression », *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, volume 29, numéro 4-5, 627-647.

SPERBER, A.D., ROTEM, A.Y., FICH, A., ROITMAN, G., SCHREIBER, G., AVISSAR, S., 2000. « G Protein Levels and Function as an Objective Measure of Depression in Patients with Functional Bowel Disorders », *International Journal of Colorectal Disease*, volume 15, numéro 4, 218-224.

SQUIRE, L.R., STARK, C.E., CLARK, R.E., 2004. « The Medial Temporal Lobe », *Annual Review of Neuroscience*, volume 27, 279-306.

STEPHAN, H., ANDY, O.J., 1977. « Quantitative Comparison of the Amygdala in Insectivores and Primates », *Acta Anatomy (Basel)*, volume 98, numéro 2, 130-153.

STEWART, R.J., CHEN, B., DOWLATSHAHI, D., MACQUEEN, G.M., YOUNG, L.T., 2001. « Abnormalities in the cAMP Signaling Pathway in Post-Mortem Brain Tissue from the Stanley Neuropathology Consortium », *Brain Research Bulletin*, volume 55, numéro 5, 625-629.

SULSER, F., 2002. « The Role of CREB and Other Transcription Factors in the Pharmacotherapy and Etiology of Depression », *Annals of Medicine*, volume 34, numéro 5, 348-356.

SUNAHARA, R.K., DESSAUER, C.W., GILMAN, A.G., 1996. « Complexity and Diversity of Mammalian Adenylyl Cyclases », *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, volume 36, 461-480.

SUNAHARA, R.K., TAUSSIG, R., 2002. « Isoforms of Mammalian Adenylyl Cyclase: Multiplicities of Signaling », *Molecular Interventions*, volume 2, numéro 3, 168-184.

SWAAB, D.F., HOFMAN, M.A., LUCASSEN, P.J., PURBA, J.S., RAADSHEER, F.C., VAN DE NES, J.A., 1993. « Functional Neuroanatomy and Neuropathology of the Human Hypothalamus », *Anatomy and Embryology*, volume 187, numéro 4, 317-330.

SWANSON, L.W., PETROVICH, G.D., 1998. « What is the Amygdala? », *Trends in Neuroscience*, volume 21, numéro 8, 323-331.

SWEATT, J.D., 2004. « Hippocampal Function in Cognition », *Psychopharmacology*, volume 174, numéro 1, 99-110.

TAUSSIG, R., ZIMMERMANN, G., 1998. « Type-Specific Regulation of Mammalian Adenylyl Cyclases by G protein Pathways », *Advances in Second Messenger Phosphoprotein Research*, volume 32, 81-98.

TAYLOR, S.S., BUECHLER, J.A., YONEMOTO, W., 1990. « cAMP-Dependent Protein Kinase: Framework for a Diverse Family of Regulatory Enzymes », *Annual Review in Biochemistry*, volume 59, 971-1005.

THOME, J., SAKAI, N., SHIN, K., STEFFEN, C., ZHANG, Y.J., IMPEY, S., STORM, S., DUMAN, R.S., 2000. « cAMP Response Element-Mediated Gene Transcription is Upregulated by Chronic Antidepressant Treatment », *Journal of Neuroscience*, volume 20, numéro 11, 4030-4036.

VAGELL, M.E., MCGINNIS, M.Y., POSSIDENTE, B.P., NARASIMHAN, V.N., LUMIA, A.R., 1991. « Olfactory Bulbectomy Increases Basal Suprachiasmatic Cyclic AMP Levels in Male Rats », *Brain Research Bulletin*, volume 27, numéro 6, 839-842.

VAIDYA, V.A., DUMAN, R.S., 2001. « Depresssion-Emerging Insights from Neurobiology », *British Medical Bulletin*, volume 57, 61-79.

VALDIZÁN, E.M., GUTIERREZ, O., PAZOS, A., 2003. « Adenylate Cyclase Activity in Postmortem Brain of Suicide Subjects: Reduced Response to Beta-Adrenergic Stimulation », *British Medical Bulletin*, volume 57, 61-79.

VAN DER STELT, H.M., BREUER, M.E., OLIVIER, B., WESTENBERG, H.G., 2005. « Permanent Deficits in Serotonergic Functioning of Olfactory Bulbectomized Rats: An in Vivo Microdialysis Study », *Biological Psychiatry*, volume 57, numéro 9, 1061-1067.

VAN RIEZEN, H., LEONARD, B.E., 1990. « Effects of Psychotropic Drugs on the Behavior and Neurochemistry of Olfactory Bulbectomized Rats », *Pharmacology & Therapeutics*, volume 47, numéro 1, 21-34.

VENEMA, R.C., JU, H., VENEMA, V.J., SCHIEFFER, B., HARP, J.B., EATON, D.C., MARRERO, M.B., 1998. « Angiotensin II-Induced Association of Phospholipase Cgamma1 with the G-Protein-Coupled AT1 Receptor », *The Journal of Biological Chemistry*, volume 273, numéro 13, 7703-7708.

VOGT, B.A., FINCH, D.M., OLSON, C.R., 1992. « Functional heterogeity in cingulated cortex: the anterieur executive and posterior evaluative regions » *Cerebral Cortex*, volume 2, numéro 6, 435-43.

VOGT, B.A., VOGT, L., 2003. « Cytology of Human Dorsal Midcingulate and Supplementary Motor Cortices » *Journal of Chemical Neuroanatomy*, volume 26, numéro 4, 301-309.

VOGT, B.A., VOGT, L., FARBER, N.B., BUSH, G., 2005. « Architecture and Neurocytology of Monkey Cingulate Gyrus » *Journal of Comparative Neurology*, volume 485, numéro 3, 218-239.

WALLACE, T.L., STELLITANO, K.E., NEVE, R.L., DUMAN, R.S., 2004. « Effects of Cyclic Adenosine Monophosphate Response Element Binding Protein Overexpression in the Basolateral Amygdala on Behavioral Models of Depression and Anxiety », *Biological Psychiatry*, volume 56, numéro 3, 151-160.

WEBSTER, H.H., PERRY, D., GODBOUT, R., 1995. « The Sleep-Wake Cycle Organization in a Rat Model of Depression: The Bilateral Olfactory Bulbectomy Syndrome », *Sleep Research*, volume 24A, 377 (résumé).

WEBSTER, H.H., FLORES, G., MARCOTTE, E.R., CECYRE, D., QUIRION, R., SRIVASTAVA, L.K., 2000. « Olfactory Bulbectomy Alters NMDA Receptor Levels in the Rat Prefrontal Cortex », *Synapse*, volume 37, numéro 2, 159-162.

WEST, A.E., CHEN, W.G., DALVA, M.B., DOLMETSCH, R.E., KORNHAUSER, J.M., SHAYWITZ, A.J., TAKASU, M.A., TAO, X., GREENBERG, M.E., 2001. « Calcium Regulation of Neuronal Gene Expression », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, volume 98, numéro 20, 11024-11031.

WILLIAMS, G., HARROLD, J.A., CUTLER, D.J., 2000. « The Hypothalamus and the Regulation of Energy Homeostasis: Lifting the Lid on a Black Box », *Proceedings of the Nutrition Society*, volume 59, numéro 3, 385-396.

WILLNER, P., 1997. « Validity, Reliability and Utility of the Chronic Mild Stress Model of Depression: a 10-year Review and Evaluation », *Psychopharmacology (Berl)*, volume 134, numéro 4, 319-329.



WRYNN, A.S., MACSWEENEY, C.P., RANCONI, F., LEMAIRE, L., POULIQUEN, D., HERLIDOU, S., LEONARD, B.E., GANDON, J., DE CERTAINES, J.D., 2000. « An In-vivo Magnetic Resonance Imaging Study of the Olfactory Bulbectomized Rat Model of Depression », *Brain Research*, volume 879, numéro 1-2, 193-199.

YAMADA, S., YAMAMOTO, M., OZAWA, H., RIEDERER, P., SAITO, T., 2003. « Reduced Phosphorylation of Cyclic AMP-Responsive Element Binding Protein in the Postmortem Orbitofrontal Cortex of Patients with Major Depressive Disorder », *Journal of Neural Transmission*, volume 110, numéro 6, 671-680.

YAMAGUCHI, T., OHYAMA, M., SUZUKI, M., OZAWA, Y., HATANAKA, K., HIDAKA, K., YAMAMOTO, M., 1998. « Neurochemical and behavioral characterization of potential antidepressant properties of indeloxazine hydrochloride », *Neuropharmacology*, volume 37, numéro 9, 1169-1176.

YOUNG, L.T., LI, P.P., KISH, S.J., SIU, K.P., WARSH, J.J., 1991. « Postmortem Cerebral Cortex Gs Alpha-Subunit Levels Are Elevated in Bipolar Affective Disorder », *Brain Research*, volume 553, numéro 2, 323-326.

YOUNG, L.T., LI, P.P., KISH, S.J., SIU, K.P., KAMBLE, A., HORNYKIEWITZ, O., WARSH, J.J., 1993. « Cerebral Cortex Gs Alpha Protein Levels and Forskolin-Stimulated Cyclic AMP Formation are Increased in Bipolar Affective Disorder », *Journal of Neurochemistry*, volume 61, numéro 3, 890-898.

YOUNG, L.T., LI, P.P., KAMBLE, A., WARSH, J.J., 1994. « Mononuclear Leukocyte Levels of G proteins in Depressed Patients with Bipolar Disorder or Major Depressive Disorder », *American Journal of Psychiatry*, volume 151, numéro 4, 594-596.

YOUNG, L.T., LI, P.P., SIU, K.P., KAMBLE, A., WARSH, J.J., 1996. « Lack of Effect of Antidepressants on Mononuclear Leukocyte G-protein Levels or Function in Depressed Outpatients », *Journal of Affective Disorders*, volume 39, numéro 3, 201-207.

YOUNG, L.T., BACKISH, D., BEAULIEU, S., 2002. « The Neurobiology of Treatment Response to Antidepressants and Mood Stabilizing Medications », *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, volume 27, numéro 4, 260-265.

YOUNG, K.A., HOLCOMB, L.A., YAZDANI, U., HICKS, P.B., GERMAN, D.C., 2004. « Elevated Neuron Number in the Limbic Thalamus in Major Depression », *American Journal of Psychiatry*, volume 161, numéro 7, 1270-1277.

